

PROSTAGLANDINE
UND „RELEASABILITY“
UNTERSUCHUNGEN ZUM EFFEKT
UNTERSCHIEDLICH WIRKENDER
STIMULI AN BASOPHILEN
LEUKOZYTEN VON ATOPIKERN
UND KONTROLLPERSONEN

Ulrike Walz

Diss
München
1986

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Direktor: Prof.Dr.Dr.h.c. O.Braun-Falco

PROSTAGLANDINE UND "RELEASABILITY"
UNTERSUCHUNGEN ZUM EFFEKT UNTERSCHIEDLICH
WIRKENDER STIMULI AN BASOPHILEN LEUKOZYTEN
VON ATOPIKERN UND KONTROLLPERSONEN

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der gesamten Medizin

an der

Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

ULRIKE WALZ

Freiburg/Brsg.

München 1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.Dr. J.Ring

Mitberichterstatter: Prof.Dr.Dr.h.c. O.Braun-Falco

Dekan: Prof.Dr. W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.04.1986

1. Einleitung

2. Zielsetzung

- 3. Aufgabenstellung
- 4. Methodik
- 5. Ergebnisse
- 6. Diskussion
- 7. Zusammenfassung
- 8. Literaturverzeichnis
- 9. Anlagen
- 10. Schlusswort

11. Anhang

12. Für meine Eltern

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN	0
A. <u>EINLEITUNG</u>	1
B. <u>PATIENTEN UND METHODEN</u>	7
1. Auswahl der Patienten	7
1.1 Auswahl der Kontrollgruppe	9
1.2 Anmerkungen zur Methodik	9
2. Leukozytengewinnung	10
3. Stimulation der basophilen Leukozyten	11
4. Nebenbemerkungen	14
5. Histaminbestimmung	15
6. Berechnungsformel	16
7. Reagenzien	17
8. Statistische Methoden	21
C. <u>ERGEBNISSE</u>	22
1. Einfluß der ausgewählten Stimulantien und ihrer Konzentrationen auf die Spezifität der Histaminmessung	22
1.1 Untersuchungen zur Inkubationsdauer	26
1.2 Problem der Non-Releaser und der erhöhten spontanen Releasability	28
2. Abhängigkeit der Histaminfreisetzung von Alter und Geschlecht	32
3. Einfluß von PGE ₂ und Indomethacin auf die Histaminfreisetzung bei Normalpersonen	38
3.1 Untersuchung der spontanen Histaminfrei- setzung	38
3.2 Untersuchung der Gesamthistaminwerte	39
3.3 Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE	41

3.4	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Ca-Ionophor	43
3.5	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit C5a	44
3.6	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit PMA	46
3.7	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Doppelstimulation mit PMA + Anti-IgE bzw. PMA + Ca-Ionophor	48
4.	Einfluß von PGE ₂ und Indomethacin auf die in-vitro Histamin-Releasability bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	51
4.1	Untersuchung der spontanen Histaminfreisetzung bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	51
4.2	Untersuchung der Gesamthistaminwerte bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	55
4.3	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	58
4.4	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Ca-Ionophor bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	63
4.5	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit C5a bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	67
4.6	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit PMA bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	71
4.7	Untersuchung der Histaminfreisetzung nach Doppelstimulation mit PMA + Anti-IgE bzw. PMA + Ca-Ionophor bei Patienten mit atopischen Erkrankungen	75

D.	<u>DISKUSSION</u>	81
1.	Gesamtwertung der Ergebnisse	81
1.1	Histaminfreisetzung durch Anti-IgE	82
1.2	Histaminfreisetzung durch Ca-Ionophor	86
1.3	Histaminfreisetzung durch C5a	91
1.4	Histaminfreisetzung durch PMA	101
1.5	Hypothesen zum Histamin Release	109
2.	Bedeutung der erhöhten spontanen "Releasability" und des "Non-Release" bei der Atopie	111
3.	Einflüsse des Prostaglandinstoffwechsels auf die Histaminfreisetzung und Bedeutung für die Pathophysiologie atopischer Erkrankungen	116
E.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	128
F.	<u>DATENANHANG</u>	130
G.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	131
H.	<u>DANKSAGUNG</u>	152
I.	<u>LEBENS LAUF</u>	153

VERZEICHNIS DER ABKÜRZUNGEN

ATP	= Adenosintriphosphat
cAMP	= zyklisches Adenosinmonophosphat
EACA	= Epsilon-Aminokapronsäure
EDTA	= Äthylendiamintetraazetat
5 HETE	= Hydroxyeicosatetraenoische Säure
5 HPETE	= Hydroperoxyeicosatetraenoische Säure
HR	= Histaminfreisetzung
IgE	= Immunglobulin E
Indo	= Indomethacin
L.	= Leukozyten
m	= männlich
NSAID	= Non-steroidal anti-inflammatory drugs
o.Z.	= ohne Zusatz
PGE ₂	= Prostaglandin E ₂
PMA	= Phorbol-12-Myristat-13-Azetat
Releasability	= Freisetzungsfreudigkeit
Release	= Freisetzung
SRS-A	= Slow reacting substance of anaphylaxis
TXA ₂	= Thromboxan A ₂
w	= weiblich

A. EINLEITUNG

Die Mastzelle als gewebsgebundene Zelle mit anfärbbaren Granula wurde zuerst von PAUL EHRLICH 1877 beschrieben (44/45). 44 Jahre später berichteten PRAUSNITZ und KÜSTNER von einem "Reagin" im Serum allergischer Patienten (150). Die Verbindung zwischen diesen beiden wegweisenden Beobachtungen wurde erst 1966 von ISHIZAKA et al. gezogen, die das IgE-Molekül als Träger der Sensibilisierung identifizierten, die nach Allergenkontakt zur Freisetzung von Mediatoren aus basophilen Leukozyten und Mastzellen führt (94).

Die humanen Mastzellen, die den Hauptteil der Mediatoren allergischer Soforttyp-Reaktionen (z.B.: Allergisches Asthma bronchiale, allergische Rhinitis, Anaphylaxie, allergische Urtikaria) enthalten, stehen für immunologische in-vitro Untersuchungen nicht oder nur schwer zur Verfügung (21/105). Im peripheren Blut befinden sich die Mediatorsubstanzen (z.B.: Histamin) vorwiegend in den basophilen Leukozyten, die sich hinsichtlich ihrer Reaktion mit Immunglobulin E und der Freisetzung von Mediatoren weitgehend gleich wie Mastzellen verhalten (21/106/111) und somit trotz ihres geringen Anteils (0,5% - 1%) an den weißen Blutkörperchen als Untersuchungsmaterial herangezogen werden können.

Histamin ist eine ubiquitär vorkommende Substanz im menschlichen Körper, die durch ihr breites biologisches Wirkungsspektrum für die Forschung interessant wurde; dabei werden seine Effekte über mindestens zwei verschiedene Rezeptoren vermittelt, die durch Untersuchungen mit rezeptorblockierenden Substanzen in H_1 - und H_2 -Rezeptoren eingeteilt werden konnten (14/26/39/120):

H₁-Effekte:

- Kontraktion der glatten Muskulatur (erstmalig von DALE und LAIDLAW 1910 beschrieben) (5/34)
- Dilatation der kleinen Blutgefäße und Erhöhung der vaskulären Permeabilität, besonders in den frühen Stadien der Entzündung (120)
- Stimulation der exokrinen Drüsen (106/111)

H₂-Effekte:

- Stimulation der Magensekretion (14)
- Mediatorfreisetzung aus humanen basophilen Leukozyten (111/120)
- Hemmung der Chemotaxis der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten, Erhöhung des zellulären cAMP-Gehalts (221)

Eine erhöhte Histaminkonzentration kann also über einen intrazellulären cAMP-Anstieg die weitere Sekretion von Histamin blockieren (Feedback-Mechanismus) (22/106/154/161/221).

Im Zytoplasma von Mastzellen und basophilen Leukozyten wird Histamin aus L-Histidin durch Dekarboxylierung synthetisiert und als Komplex mit Heparin in den Granula abgelagert (111/208). Wird ein entsprechender Zellreiz ausgeübt, so fusionieren Zellmembran und perigranuläre Membran, und Histamin wird freigesetzt, das rasch über oxidative Desaminierung oder Methylierung inaktiviert wird (106/135). Die Sekretion von Histamin wird vom Gehalt an intrazellulären zyklischen Nukleotiden mitbestimmt: Substanzen, die die Konzentration von cAMP erhöhen (z.B.: beta-Agonisten, PGE₂), vermindern die Liberation von Histamin (78/87/106/111/154/159/161/165/188/197/221).

Die Mediatorenfreisetzung kann über unterschiedliche Mechanismen erfolgen, sowohl auf einem indirekten wie auch direkten Weg:

- a) Der "indirekte" Weg über eine Antigen-Antikörperreaktion (IgE-vermittelt, komplementunabhängig, nicht zytotoxisch)

Auf der Zelloberfläche von basophilen Leukozyten und Mastzellen sind IgE-Antikörper mit ihrem Fc-Ende in der Zellmembran fixiert. Nach ISHIZAKA (96/98/106) wurden zwischen 30.000 und 100.000 IgE-Rezeptoren pro Zelle gefunden. Die Anzahl der reversibel gebundenen IgE-Moleküle beträgt 10.000 bis 40.000, sowohl bei Atopikern als auch Nichtatopikern (98/165). CONROY, ADKINSON, LICHTENSTEIN fanden bis zu maximal 500.000 IgE-Moleküle pro Zelle und zeigten einen deutlichen Unterschied in der Anzahl der fixierten IgE-Moleküle zwischen Atopikern und gesunden Probanden (30). Zellgebundenes IgE korreliert mit der Konzentration an frei zirkulierenden IgE-Molekülen im Serum (165). Allergene können durch "Brückenbildung" mit dem Fab-Anteil der fixierten IgE das Startsignal für eine Reihe komplexer biochemischer Reaktionen setzen, an deren Ende die Mediatorenfreisetzung steht (78/81/84/87/100/106/121/165/196). Ebenso wirken Antikörper gegen IgE, gegen den IgE-Rezeptor oder Concanavalin A.

- b) "Direkt" kann die Zelle z.B. mit Ca-Ionophor stimuliert werden. REED und LARDY zeigten als erste den erleichterten Ionentransport von Kalzium oder Magnesium mittels "Carrier" an den Mitochondrien von Rattenleberzellen (153).

Ein weiterer hochpotenter, nicht zytotoxischer Mediatorenliberator ist das Anaphylatoxin C5a: bei optimalen Bedingungen kann es in weniger als zwei Minuten die gesamte Histaminmenge freisetzen (43/106/149/190).

Das tumorauslösende Agens PMA (Phorbol-13-Myristat-13-Azetat) ist inzwischen auch für die Allergieforschung interessant geworden. PMA ist ein nicht zytotoxischer Histaminliberator, der kein extrazelluläres Kalzium benötigt und dessen Effekt von cAMP unbeeinflusst bleibt (70/131/178/179).

Auf entsprechenden Zellreiz hin sezernieren Mastzellen und basophile Granulozyten neben Histamin noch eine Reihe weiterer vasoaktiver oder chemotaktischer Substanzen, Enzyme und Proteoglykane, die an der allergischen Reaktion teilnehmen. Alle Mediatorensubstanzen können in zwei Gruppen unterteilt werden: Nämlich in solche wie Histamin, Serotonin, ECF-A (eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis), NCF (neutrophil chemotactic factor), die bereits in der Zelle gespeichert sind, und solche wie PAF (platelet activating factor), Prostaglandine, SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis = Leukotriene C_4 , D_4 und E_4), die erst aufgrund der Zellaktivierung gebildet werden (43/59/71/206/221).

Von den genannten Mediatoren haben in den letzten Jahren vor allen Dingen die Prostaglandine an Bedeutung gewonnen. Sie entstehen über eine Zyklooxygenase aus Arachidonsäure, die aus Membranphospholipiden durch Aktivierung der Phospholipase A freigesetzt wird. Man kennt derzeit über 10 natürlich vorkommende Prostaglandine mit vielfältigen, zum Teil gegensätzlichen biologischen Aktivitäten (5/24/76/203/229).

In pathophysiologischer Betrachtung steht die PGE-Gruppe, einmal über deren Vasodilatation und zum anderen über deren intrazelluläre Wirkung, im Vordergrund des Interesses. PGE stellt einen Aktivator des cAMP dar und führt zur Vasodilatation mit gleichzeitiger Membranstabilisierung ("zytoprotektiver Effekt") (185/196).

Ein oft zitiertes Beispiel für die unterschiedlichen Wirkungen der Prostaglandine ist das Asthma bronchiale: Hier wirkt $\text{PGF}_2 \alpha$ konstriktorisch auf die glatte Bronchialmuskulatur, während PGE_1 und PGE_2 dilatieren (112/123).

Auch an der Genese der Entzündungssymptomatik wie Fieber, Schmerzen und Ödeme sind Prostaglandine beteiligt. So gelang es VANE et al. im klinischen Versuch, aus der Synovialflüssigkeit arthritischer Gelenke im Frühstadium PGE_2 und $\text{PGF}_2 \alpha$ nachzuweisen (24/76/211).

Die Wirksamkeit der Prostaglandine wird durch die Synthesemenge, die Sensitivität der Zellen, auf die sie einwirken, und die Abbaugeschwindigkeit in vivo reguliert. Die bekannteste und therapeutisch genutzte Wirkung von nicht-steroidalen Antiphlogistika wie Azetylsalizylsäure oder Indomethacin beruht auf einer Hemmung der Zyklooxygenase (87/165/185/223).

So ergaben sich folgende Fragestellungen für eine eingehendere Untersuchung:

- Welche Auswirkungen haben Prostaglandine (in diesem Fall PGE_2) auf die Freisetzung von Histamin?
- Welche Auswirkung hat Indomethacin auf die Freisetzung von Histamin?
- In wieweit werden Reaktionen menschlicher basophiler Leukozyten auf Zellstimuli wie Anti-IgE, Ca-Ionophor, C5a und PMA durch PGE_2 und Indomethacin beeinflusst?
- Welche Auswirkung hat eine Simultaninkubation von PMA + Anti-IgE und PMA + Ca-Ionophor auf das Freisetzungverhalten (Synergismus, Addition?)
- Welche Unterschiede ergeben sich bei allen Fragestellungen zwischen Atopikern und Nichtatopikern?

- Gibt es bei einer Patienteneinteilung in Gruppen nach unterschiedlichen Krankheitserscheinungen des atopischen Symptomenkomplexes ein variables Freisetzungsverhalten für Histamin (unter Berücksichtigung der ersten drei Fragestellungen)?

B. PATIENTEN UND METHODEN

1. AUSWAHL DER PATIENTEN

Die Untersuchungen wurden an insgesamt 43 Patienten der Allergie-Ambulanz der Dermatologischen Poliklinik München im Zeitraum November 1982 bis Mai 1983 durchgeführt. Das Patientenkollektiv setzte sich aus 20 männlichen und 23 weiblichen Testpersonen im Alter von 14 - 49 Jahren zusammen (s. Tabelle 1).

Tabelle 1: Aufschlüsselung des Patientenkollektivs nach
Alter und Geschlecht

	Anzahl der Patienten	Durchschnitts- alter in Jahren	jüngster Pat.	ältester Pat.
ges.	43	30,8	14	49
w	23	30,4	14	49
m	20	31,2	17	44

Den Patienten wurde chronologisch entsprechend ihrem Platz in der Untersuchungsreihe eine Nummer zugeteilt. In einer tabellarischen Übersicht wurden die Patienten nach Geschlecht getrennt und altersgemäß geordnet (s. Datenanhang). Anhand der Diagnosen erschien eine weitere Einteilung in vier Patientengruppen sinnvoll:

- GRUPPE I: Atopisches Ekzem: Atopiepatienten mit Hauterscheinungen
- GRUPPE II: Respiratorische Atopie: Patienten, die auf Pollen, Hausstaub und Tierhaare mit ausgeprägter Rhinitis reagieren oder laut Anamnese ein allergisches Asthma bronchiale entwickeln
- GRUPPE III: Sonstige Soforttyp-Allergien: Patienten mit Wespen- oder Bienengiftallergie, Arznei- oder Nahrungsmittelallergien, sowie Patienten mit chronisch rezidivierender Urtikaria
- GRUPPE IV: Allergisches Kontaktekzem

Tabelle 2: Einteilung des Patientenkollektivs in Gruppen mit Altersangaben

Gruppe	Anzahl der Patienten	Durchschnittsalter in Jahren	jüngster Pat.	ältester Pat.
I	8	25,0	14	48
II	16	32,3	17	46
III	13	37,6	29	49
IV	6	26,1	21	32

1.1 AUSWAHL DER KONTROLLGRUPPE

In der Kontrollgruppe befanden sich 13 Personen (m=7, f=6) im Alter von 21 - 55 Jahren, die in ihrer Anamnese keinerlei Hinweise für atopische Erkrankungen oder sonstige Allergien aufwiesen. Es handelte sich um Patienten (Lues, Gonorrhoe, Verrucae vulgaris, Follikulitis, Malignes Melanom) und Klinikpersonal.

Tabelle 3: Aufschlüsselung der Kontrollpersonen nach
Alter und Geschlecht

	Anzahl der Kontrollp.	Durchschnitts- alter in Jahren	jüngste Kontrollp.	älteste Kontrollp.
ges.	13	29,2	21	54
w	6	26,5	24	29
m	7	32,0	21	54

1.2 ANMERKUNGEN ZUR METHODIK

Insgesamt wurden 48 Personen (m=24, f=24) untersucht, wobei jedoch 5 Patienten (m=4, f=1) bei allen Stimuli keine oder eine konstante Histaminfreisetzung zeigten. Diese 5 Testpersonen wurden bei der Auswertung nicht berücksichtigt (d.h. 43 verwertbare Testansätze). Da die Untersuchungen an diesen 5 Patienten an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt wurden, liegt die Vermutung eines technischen Fehlers nahe (z.B.: Spülmittel, veraltete Substanzen verwendet).

2. LEUKOZYTENGWINNUNG

Jedem Patienten wurde mit einer heparinisierten Spritze 20 ml Vollblut abgenommen und mit 5 - 10 ml Macrodex (6%) verdünnt. Die Spritze wurde für 60 - 90 Minuten senkrecht mit der Spitze nach oben an der Wand fixiert, um die Sedimentation der Erythrozyten zu gewährleisten.

Der Plasma-Thrombozyten-Leukozyten-Überstand wurde vorsichtig durch ein Butterflysystem in ein Kunststoffröhrchen geleitet und 15 min. zentrifugiert (bei 400xg, 4°). Nach Verwerfen des Überstands wurde das Sediment mit TCM-Puffer (pH: 7,4, 4°) aufgeschwemmt und erneut zentrifugiert (10 min, bei 400xg, 4°). Dieser Vorgang wurde nochmals wiederholt und das verbleibende Sediment durch Aufschwemmen mit TCM-Puffer auf das benötigte Volumen von 10 ml gebracht. Das Aufschwemmen der Zellen in TCM-Puffer erfolgte möglichst schonend mit Kunststoffpipetten, um eine mechanische Stimulation oder gar Zerstörung der Zellen zu vermeiden.

Die Konzentration der weißen Blutkörperchen wurde nun mit Hilfe der Neubauer-Zählkammer unter dem Mikroskop bestimmt. Die Zellzahl sollte 1×10^6 - 2×10^6 Zellen pro ml betragen. Dafür mußte die Zellsuspension meistens weiter mit TCM-Puffer verdünnt werden. So wurde in allen Fällen ein Gesamtvolumen von mindestens 51 ml pro Ansatz erreicht, wonach sich bei Doppelbestimmungen jeden Wertes die Zahl der Untersuchungen ergab.

3. STIMULATION DER BASOPHILEN LEUKOZYTEN

Für den Testansatz wurden pro Patient 102 Kunststoffröhrchen in je drei Serien (A=34 Proben, B=34 Proben, c=34 Proben) vorbereitet (s. Tabelle 4, S.12)

Die Probennummern 5-30 in allen Serien, denen später je 50 μ l Anti-IgE, C5a, Ca-Ionophor oder PMA zugefügt wurde, enthielten zunächst nur je 50 μ l TCM-Puffer, um die Volumendifferenz zu den Proben 31-34 auszugleichen, in die je 2x50 μ l Anti-IgE, C5a, Ca-Ionophor oder PMA (zwei verschiedene Stimuli) einpipettiert wurden. Das galt auch für die Differenz zu Probennummer 1 und 2 (Leerwert) mit je 100 μ l TCM-Puffer und 3 und 4 (100%-Wert) mit je 100 μ l Perchlorsäure (70%).

Ein Leerwert wurde angesetzt, da auch ohne Allergenstimulation eine gewisse "spontane" Histaminfreisetzung aus den basophilen Leukozyten erfolgte, die später bei der Berechnung berücksichtigt werden mußte. Der Gesamthistamingehalt wurde als 100%-Wert ausgedrückt und galt als Grundlage für die Beurteilung sämtlicher Werte.

Zu den Testansätzen der Serie B wurden zusätzlich je 20 μ l Prostaglandin E_2 ($10^{-6}M$) pipettiert und zu den Proben der Serie C je 20 μ l Indomethacin ($10^{-6}M$). Zu jedem der 102 vorbereiteten Röhrchen (Serie A,B,C) wurden nun 500 μ l der Zellsuspension pipettiert (insgesamt 51 ml).

Diese so präparierten Proben wurden im Wasserbad bei 37° unter ständigen automatischen Rüttelbewegungen für 10 min. präinkubiert. Alle weiteren Untersuchungsschritte bis zum Stoppen der Reaktionen durch Abkühlen fanden im Wasserbad statt.

Tabelle 4: Stimulation der basophilen Leukozyten

			PGE ₂ (10 ⁻⁶ M)		INDO (10 ⁻⁶ M)		
			20 µl		20 µl		
Substanzen			Röhrchen	Serie A	Serie B	Serie C	
LW			1 + 2	100 µl TCM - Puffer			
100%-Wert			3 + 4	100 µl 70% Perchlorsäure			
je 50 µl nach Präinkubation	Anti-IgE	10 ⁻²	5 + 6				+ 50 µl TCM - Puffer
		10 ⁻³	7 + 8				
		10 ⁻⁴	9 + 10				
	Ca-Iono	10 ⁻³	11 + 12				
		10 ⁻⁴	13 + 14				
		10 ⁻⁵	15 + 16				
	C5a	10 ⁰	17 + 18				
		10 ⁻¹	19 + 20				
		10 ⁻²	21 + 22				
	PMA (ng/ml)	10	23 + 24				
		3	25 + 26				
		1	27 + 28				
		0,3	29 + 30				
	Anti-IgE 10 ⁻² + PMA 1 ng/ml		31 + 32				
	Ca-Iono 10 ⁻³ + PMA 1 ng/ml		33 + 34				
				+ 500 µl Zellsuspension			

Nach der Präinkubation wurden je 50 µl Anti-IgE, Ca-Ionophor, C5a oder PMA in verschiedenen Verdünnungen zu den einzelnen Proben pipettiert (s. Tabelle 4, S. 12):

- a.) Anti-IgE (Serumverdünnung $10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}$)
- b.) Ca-Ionophor (Serumverdünnung $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$.)
- c.) C5a (Serumverdünnung $10^0, 10^{-1}, 10^{-2}$)
- d.) PMA (10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml)

Bei den Ansätzen 31 - 34 wurden jeweils zuerst 50 µl Anti-IgE 10^{-2} (gleichzeitig mit 5 und 6) bzw. 50 µl Ca-Ionophor 10^{-3} (gleichzeitig mit 11 und 12) zugefügt und anschließend 50 µl PMA 1 ng/ml (gleichzeitig mit 27 und 28) entsprechend der Zahlenfolge der Proben.

Das Gesamtvolumen der Proben in Serie A betrug jeweils 600 µl (z.B.: A 17: 50 µl TCM-Puffer + 500 µl Zellsuspension + 50 µl C5a 10^0); in Serie B und C jeweils 620 µl (z.B.: B 17: 50 µl TCM-Puffer + 20 µl PGE₂ + 500 µl Zellsuspension + 50 µl C5a 10^0). Der quantitative Unterschied von 20 µl zwischen Serie A und B,C konnte vernachlässigt werden, wie ein Vorversuch mit zusätzlichen 20 µl TCM-Puffer bei Serie A zeigte. (Keine Differenz bei der Histaminfreisetzung).

Bezüglich der Inkubationszeiten nach Stimulierung wurden zwei Gruppen gebildet: Bei der Mehrzahl der Probanden (Patienten und Kontrollpersonen 16 - 57) betrug die Inkubationsdauer 30 Minuten. Bei den Probanden 1 - 15 wurde die Reaktion sofort nach Zugabe der Stimuli durch Abkühlen gestoppt (Inkubationsdauer 30 sec. bis 1 min.). In beiden Fällen wurden die Röhrchen anschließend für 15 min. (700xg, 4°) zentrifugiert. Die gewonnenen Überstände wurden mit 0,5 ml Perchlorsäure (2%) zur Enteiweißung versetzt und für die Histaminanalyse eingefroren.

Die Proben mit C5a (10^0 , 10^{-1}) mußten nochmals zentrifugiert werden, da Eiweiß ausfiel und der trübe Analysenansatz zu einer Verfälschung der Meßergebnisse führen konnte.

4. NEBENBEMERKUNGEN

- Für alle verwendeten Substanzen wurden Leerwerte hergestellt (500 µl TCM-Puffer + 50 µl Anti-IgE, Ca-Ionophor, C5a oder PMA), um sie auf Eigenfluoreszenz im Autoanalyzer zu untersuchen und evtl. bei der Berechnung berücksichtigen zu können.
- Allgemeine Verwendung automatischer Pipetten.
- Alle Werte wurden doppelt bestimmt und der resultierende Mittelwert zur weiteren Berechnung herangezogen.
- In Voruntersuchungen zeigte sich bei Zweifachbestimmungen an einem Patienten eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse.
- Teilweise ergaben sich bei der Berechnung Werte über 100%, die definitionsgemäß = 100 gesetzt wurden. (negative Werte = 0).
- Alle Untersuchungen fanden im Winter und Frühjahr statt (Ende November 1982 bis Ende Mai 1983). Es wäre interessant, die gleiche Untersuchungsreihe im Sommer durchzuführen, um evtl. eine jahreszeitliche Abhängigkeit in der Histaminfreisetzung zu entdecken.

5. HISTAMINBESTIMMUNG

Es gibt drei verschiedene Möglichkeiten, Histamin zu bestimmen:

- 1.) Im "Bioassay" wird die Kontraktion von Meer-
schweinchenileum nach Histaminzugabe registriert.
Die Sensitivität liegt bei 3 - 10 ng Histamin.
(106/111)
- 2.) Kleinste Mengen von Histamin (0,05 - 0,1 ng)
können mit der radioenzymatischen Technik be-
stimmt werden (SNYDER, BEAVEN).
- 3.) Die heute gängigste Methode basiert auf dem
fluorophotometrischen Nachweis von Histamin,
wie sie zuerst von SHORE et al. beschrieben
wurde (182). Die Weiterentwicklung durch
SIRAGANIAN et al. zu einer automatisierten
Methode mittels Autoanalyzer bietet eine Sen-
sitivität von 0,05 ng Histamin in 0,5 ml An-
satz und ist somit der Isotopentechnik ver-
gleichbar. Weitere Vorteile des Autoanalyzers
liegen in der Automation, Reproduzierbarkeit,
einfachen Handhabung und der Schnelligkeit ei-
ner großen Anzahl an Analysen (187/188).

Die Histaminfreisetzung in der vorliegenden Untersuchung wurde ebenfalls durch die Autoanalyzertechnik bestimmt:

Nach Enteiweißung mit Perchlorsäure (2%) werden die Proben durch Butanolextraktion in alkalischem Milieu gereinigt, angesäuert und in Heptan aufgenommen. Dann erfolgt die Kondensation von Histamin mit o-Phthalaldehyd (OPT) zu einem fluoreszierenden Farbstoff (Aktivierung bei 350 nm). Die Fluoreszenzintensität des Fluorochroms, gemessen bei 450 nm, verhält sich proportional zur Histaminkonzentration.

6. BERECHNUNGSFORMEL

Die Berechnung der Histaminkonzentration anhand der erhaltenen Kurven erfolgte nach folgender Formel:

$$A = \frac{(\text{Ausschlag A} - \text{Ausschlag BL}) \times \text{Verdünnung} \times 10}{\text{Ausschlag ST}} \quad \text{in ng/ml}$$

A = Analyse (Inhalt der einzelnen Röhrchen)

ST = Standard (Vor jeder Serie (A,B,C) mit je 34 Proben wurden zwei Standards mit einem Histamingehalt von 10 ng/ml zur Eichung gemessen.)

BL = Baseline $\hat{=}$ theoretische Nulllinie des Kurvenblatts

Der erhaltene Histaminwert der Analyse in ng/ml mußte in % umgerechnet werden, um einen Vergleich mit den 100%-Werten ziehen zu können. Außerdem mußten von dem Analysenwert noch der Leerwert und die teilweise erhaltenen Eigenfluoreszenzen subtrahiert werden.

7. REAGENZIEN

6% Dextran 60: (Macrodex), in physiologischer Kochsalzlösung, gebrauchsfertig von Fa. Knoll, Ludwigshafen

TCM-Puffer: (Tris, Ca^{++} , Mg^{++})
Tris (25 mM), NaCl (120 mM), KCl (4 mM),
MgCl (1 mM), CaCl (0,6 mM)
Die Pufferlösung wurde für den Gebrauch bei Zimmertemperatur auf einen pH: 7,4 mit NaOH und HCl titriert.

Perchlorsäure: 70% zur Gesamthistaminbestimmung und auf 2% verdünnt zur Enteiweißung der Proben (Fa. Merck, Darmstadt)

Anti-IgE-Serum: Antihuman-IgE wurde durch Immunisierung von Kaninchen erhalten (Antikörpertiter: 492279 IU/ml) (Behringwerke AG, Marburg)
Verdünnungen von 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} in TCM-Puffer wurden hergestellt und in kleinen Portionen bei 4° im Kühlschrank aufbewahrt.

($10^{-2} \hat{=}$ 4922,79 IU/ml

$10^{-3} \hat{=}$ 492,27 IU/ml

$10^{-4} \hat{=}$ 49,22 IU/ml)

Ca-Ionophor

A 23187:

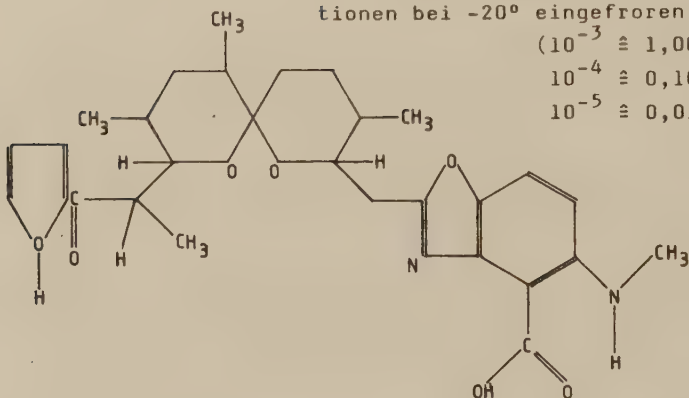
(Eli Lilly, Landsberg)

Eine Lösung von 1 mg/ml in 1% Methanol wurde hergestellt. In einer Verdünnungsreihe von 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} wurde die Substanz in kleinen Portionen bei -20° eingefroren.

($10^{-3} \hat{=} 1,00$ mg/l

$10^{-4} \hat{=} 0,10$ mg/l

$10^{-5} \hat{=} 0,01$ mg/l)

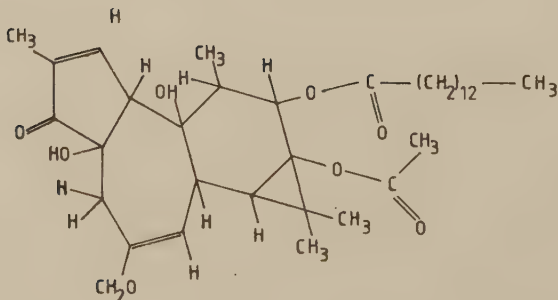


PMA:

(Phorbol-12-Myristat-13-Azetat)

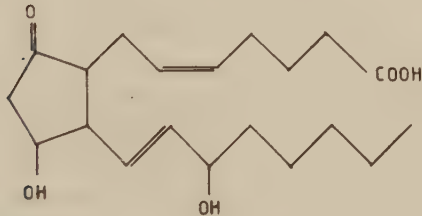
(Fa. Sigma, München), PMA (5 mg/ml)

wurde in TCM-Puffer verdünnt auf 10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml und in kleinen Portionen bei -20° eingefroren



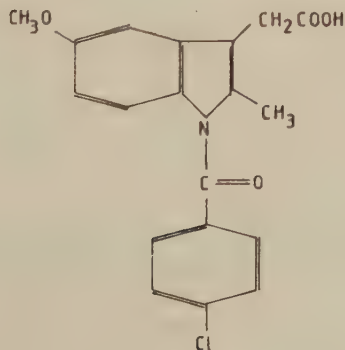
Prostaglandin E₂:

PGE₂ lag als 1 molare Lösung in PBS-Puffer vor (352,5 mg/ml) und wurde mit TCM-Puffer auf 10⁻⁶M verdünnt und in kleinen Portionen bei -20° aufbewahrt.
(Fa. Sigma, München)



Indomethacin:

Indomethacin lag als 1 molare Lösung in TCM-Puffer vor (300 g/l) und wurde mit TCM-Puffer auf 10⁻⁶M verdünnt und in kleinen Portionen bei -20° aufbewahrt.
(Merck, Sharp & Dohme GmbH, München)



C5a-aktiviertes Serum : Das nach Komplementaktivierung durch Hefe entstehende Anaphylatoxin (C3a, C5a) wird im Serum durch eine Carboxypeptidase B schnell inaktiviert. Dies wird durch Zugabe von EACA (Epsilon-Aminokapronsäure) unterbunden, wie VALLOTTA und MÜLLER-LIBERHARD 1973 und 1974 in Untersuchungen zeigten (92/210). Auf diesen Ergebnissen basierend wurde das C5a-aktivierte Serum hergestellt:

Dr. Oetker-Hefe wurde 30 min. in Aqua dest. gekocht und anschließend 30 min. zentrifugiert. Das gewonnene Sediment wurde feucht gewogen, in TCM-Puffer resuspendiert und eine Lösung mit 20 mg/ml hergestellt. Diese Lösung wurde im Verhältnis 1:1 mit EACA versetztem Serum bei 37° für 30 min. inkubiert. (10 ml homologes Serum waren mit 656 mg/5 ml EACA (Fa. Roche) vermischt worden und bei 4° 16 Stunden aufbewahrt worden).

Dieses Gemisch aus EACA-Serum und Hefe wurde bei 6000 UPM 30 min. lang zentrifugiert. Der Überstand wurde anschließend gegen die 10 - 20fache Menge einer phosphatgepufferten NaCl-Lösung (0,1M, pH: 7,4, 4°) über Nacht dialysiert. Kleine Portionen von C5a-aktiviertem Serum wurden bei - 20° eingefroren und je nach Gebrauch mit TCM-Puffer 1:10 und 1:100 verdünnt.

Im folgenden wurden zur Vereinfachung der Schreibweise Anti-IgE, Ca-Ionophor und C5a in Verdünnungen der Ausgangslösungen angegeben.

8. STATISTISCHE METHODEN

Berechnung des Mittelwerts $\bar{x}$:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Berechnung der Standardabweichung S :

$$S = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}}{n - 1}$$

Mittlerer Fehler des Mittelwerts $s_{\bar{x}}$:

$$s_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Signifikanzberechnung :

(Unter Verwendung des Student-Tests für verbundene oder unverbundene Stichproben). Die Berechnung der Signifikanz führt zu der Aussage, ob ein bedeutender Unterschied zwischen zwei berechneten Werten besteht; d.h., ob eine Aussage signifikant ist.

$$t_0 = \sqrt{\frac{(n_1 + n_2) \cdot n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}} \cdot \sqrt{\frac{(x_1 - x_2)^2}{(n_1 - 1) \cdot S_1^2 + (n_2 - 1) \cdot S_2^2}}$$

Eine Differenz zwischen zwei Werten gilt als signifikant, wenn gilt:

$$t_0 > t \text{ für } p \leq 0,05 \text{ (95\%), bzw. } p \leq 0,01 \text{ (99\%)}$$

für t, siehe entsprechende Tabellen

mit $f = n_1 + n_2 - 2$ (f = Freiheitsgrade)

C. ERGEBNISSE

1. EINFLUSS DER AUSGEWÄHLTEN STIMULANTIEN UND IHRER KONZENTRATIONEN AUF DIE SPEZIFITÄT DER HISTAMINMESSUNG

Die basophilen Leukozyten wurden mit sechs verschiedenen Stimulantien (Anti-IgE, Ca-Ionophor C5a, PMA, Prostaglandin E₂, Indomethacin) in unterschiedlichen Kombinationen und Konzentrationen inkubiert, um deren Wirkung auf die Histaminliberation zu untersuchen (s. Versuchsaufbau).

- Anti-IgE als bisher am besten untersuchter Stimulus der Histaminfreisetzung hat einen indirekten Angriffspunkt über die Brückenbildung mit Immunglobulin E. Anti-IgE-Serum wurde in der vorliegenden Untersuchung in einer Verdünnungsreihe von 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} verwandt, die sich in früheren Untersuchungen bewährt hatte (97/98/119/126/190/218). Anti-IgE zeigte keine Eigenfluoreszenz bei allen Verdünnungen.

- Ca-Ionophor stimuliert die Zelle direkt über den "erleichterten Transport" von Energieträgern wie z.B. Ca⁺⁺. LICHTENSTEIN (121) hat für seine Versuche Verdünnungsstufen von 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} gewählt, während BEHRENDT, ROSENKRANZ und SCHMUTZLER (12) ihre Versuche an humanen Mastzellen mit Verdünnungen von 10^{-6} und 10^{-7} durchführten. In der vorliegenden Untersuchung wurden Verdünnungen von 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} verwandt. In diesen Konzentrationen zeigte Ca-Ionophor keine Eigenfluoreszenz.

- Die Peptide C3a, C5a (Anaphylatoxine) entstehen als Spaltprodukte von C3 bzw. C5 bei der Aktivierung des Komplementsystems. Anaphylatoxin reagiert mit einem oder mehreren Oberflächenrezeptoren auf der Oberfläche von Mastzellen und basophilen Leukozyten (86/203) und führt zur Freisetzung vasoaktiver Mediatoren. Die Wirkung von C5a auf basophile Leukozyten wurde in Serumverdünnungen von 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} untersucht, wie sie sich in früheren Untersuchungen bewährt hatten (89/190).

Bei der Messung des Leerwerts von C5a (10^0), also unverdünnt, ergab sich eine geringe Eigenfluoreszenz von 0,12 ng/ml, die bei der Versuchsauswertung jeweils von den erhaltenen Histaminwerten subtrahiert werden mußte. Bei Serumverdünnung auf 10^{-1} bzw. 10^{-2} konnte keine Eigenfluoreszenz mehr nachgewiesen werden. Da C5a ohnehin der stärkste der getesteten Histaminliberatoren war, fiel die geringe Eigenfluoreszenz nicht ins Gewicht.

- Phorbol-12-Myristat-13-Azetat (PMA) als stärkster Phorboldiester kann in einer Konzentration von 100 ng/ml bis zu 80% des kompletten Histamingehalts bei menschlichen Leukozyten freisetzen (178). Im vorliegenden Experiment wurde in Übereinstimmung mit den Autoren SCHLEIMER, GILLESPIE, LICHTENSTEIN (178/179) mit vier verschiedenen Konzentrationen gearbeitet (10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml). In Anlehnung an SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN wurde zusätzlich ein "Doppelinkubationsversuch" mit PMA (1 ng/ml) + Anti-IgE (10^{-2}) und PMA (1 ng/ml) + Ca-Ionophor (10^{-3}) durchgeführt (179), um eine Wechselwirkung im Sinne einer Erhöhung oder Verminderung der vorher einzeln untersuchten Substanzen erkennen zu können.

In den verwendeten Konzentrationen zeigte PMA keine Eigenfluoreszenz.

- Prostaglandin E_2 (PGE_2), ein Abkömmling der Arachidonsäure über den Zykllooxygenaseweg, hat neben vielen anderen Wirkungen auch einen Einfluß auf die Mediatorenfreisetzung aus Mastzellen und basophilen Leukozyten (1/110/113/142/180). Über eine Zunahme des intrazellulären cAMP kann PGE_2 zu einer Verminderung der Histaminliberation führen (118/133/203). Bei einem Vorversuch konnte zwischen einer PGE_2 -Konzentration von $10^{-7}M$ und $10^{-6}M$ kein signifikanter Unterschied im Bezug auf den HR festgestellt werden, so daß wiederum aus Vergleichsgründen mit der vorliegenden Literatur die Konzentration $10^{-6}M$ gewählt wurde (111/203) (s. Tabelle 5, S. 25).

Prostaglandin E_2 zeigte keine Eigenfluoreszenz in der verwendeten Konzentration von $10^{-6}M$.

- Indomethacin, das zu den nicht-steroidalen Antiphlogistika (NSAID) zählt, gehört zu den bekanntesten Zykllooxygenasehemmern (32/51/55/75/78/89/126). In früheren Untersuchungen war gefunden worden, daß Indomethacin ebenso wie Azetylsalizylsäure indirekt die Histaminfreisetzung erhöhen kann (87/126/165/185/211/218). Hier wurde dieselbe Konzentration ($10^{-6}M$) eingesetzt.

Es zeigte sich keine Eigenfluoreszenz durch die Inkubation mit Indomethacin ($10^{-6}M$).

Tabelle 5: Vergleich des Histamin Release in % nach Vor-
inkubation mit PGE_2 (10^{-6}M) und PGE_2 (10^{-7}M)
am Beispiel von Kontrollperson Nr.1

		$\text{PGE}_2(10^{-7}\text{M})$	$\text{PGE}_2(10^{-6}\text{M})$
Leerwert in % 100%-Wert ng/ 10^6L .		0,0 13,6	1,5 14,6
Anti-IgE	10^{-2}	1,7	0,0
	10^{-3}	0,0	0,0
	10^{-4}	1,7	0,0
Ca-Iono	10^{-3}	2,6	0,0
	10^{-4}	1,7	0,0
	10^{-5}	1,7	0,0
C5a	10^0	0,3	0,0
	10^{-1}	0,0	0,0
	10^{-2}	0,0	0,0

1.1 UNTERSUCHUNGEN ZUR INKUBATIONSDAUER

Bei einem Teil der Patienten (n=12) und der Kontrollpersonen (n=3) wurden in einem Vorversuch sofort nach Vorinkubation und Stimulierung die Proben in die Zentrifuge bei 4° gegeben. Bei allen anderen Versuchsansätzen wurde nach Stimulation eine halbstündige Inkubation angeschlossen, wie es bereits SIRAGANIAN, KÖNIG et al. beschrieben haben (21/111/188/189/190). In beiden Fällen wurden für alle Stimuli vergleichbare Ergebnisse erzielt (s. Tab.6, S.27); d.h., die zugefügten Substanzen konnten in der kurzen Zeitspanne zwischen Herausnehmen aus dem 37° warmen Wasserbad und Einsortieren in die auf 4° temperierte Zentrifuge (30 sec. bis 1 min.) eine Histaminfreisetzung bewirken, die durch eine zusätzliche halbstündige Inkubation nicht weiter gesteigert werden konnte. Dieses Ergebnis ist interessant, da die drei Stimuli (Anti-IgE, C5a, Ca-Ionophor ; PMA wurde in diesem Vorversuch nicht getestet) die maximale Histaminfreisetzung laut Literatur in unterschiedlichen Zeitspannen bewirken:

- Der "release" erfolgt am schnellsten nach Zugabe von C5a und ist nach 2 min. komplett (190).
- Nach Stimulation mit Anti-IgE wird der höchste Wert nach 15 min. erreicht (178/179).
- Für den maximalen HR für Ca-Ionophor finden sich unterschiedliche Zeitangaben zwischen 2 min. bis zu 160 min. (121).

Indomethacin und PGE_2 wurden den Proben entsprechend der Versuchsanordnung 10 min. lang vor Zugabe der Stimuli bei 37° zugegeben. Die daran anschließende Inkubation über 30 min. führte zu keiner signifikanten Änderung der nach 10 min. beobachteten Werte (s. Tabelle 6, S.27). Da die Ergebnisse der beiden Versuchsansätze mit und ohne zusätzliche Inkubation keine signifikanten Unterschiede zeigten, wurden sie bei der weiteren Beurteilung gemeinsam ausgewertet.

Tabelle 6: Vergleich der Histaminfreisetzungen mit und ohne zusätzliche 30 min. Inkubation am Beispiel der Anti-IgE- und C5a-Stimulation

a.) Vergleich der Anti-IgE-Werte in %

Anti-IgE-Verdünnung	Nr.7 ohne 30 min.	Nr.56 mit 30 min.
10^{-2} o.Z.	61,0	49,9
10^{-3} o.Z.	3,3	23,7
10^{-4} o.Z.	0,0	7,4
10^{-2} + PGE ₂	56,8	24,9
10^{-3} + PGE ₂	27,8	20,4
10^{-4} + PGE ₂	5,0	3,3
10^{-2} + Indo	93,4	85,0
10^{-3} + Indo	39,5	30,5
10^{-4} + Indo	1,9	6,9

b.) Vergleich der C5a-Werte in %

C5a-Verdünnung	Nr.12 ohne 30 min.	Nr.41 mit 30 min.
10^0 o.Z.	63,6	57,2
10^{-1} o.Z.	13,6	30,7
10^{-2} o.Z.	0,0	2,8
10^0 + PGE ₂	58,0	54,6
10^{-1} + PGE ₂	23,3	26,3
10^{-2} + PGE ₂	8,9	2,9
10^0 + Indo	12,8	0,0
10^{-1} + Indo	0,0	0,0
10^{-2} + Indo	0,0	0,0

1.2 PROBLEM DER "NON-RELEASER" UND DER ERHÖHTEN SPONTANEN "RELEASABILITY"

Bei Durchsicht der Histaminwerte von Patienten und Kontrollpersonen zeigten sich in vielen Fällen große Unterschiede in der "Releasability" (= Freisetzungsfreudigkeit). Sowohl bei Patienten als auch Kontrollpersonen hatten einige Zellspender auffällig hohe Histaminfreisetzungen bereits im Leerwert ($\geq 15\%$) (Nr. 4, 10, 13, 14, 15, 26, 27, 29, 39, 43), während andere (Nr. 1, 9, 23, 26, 49, 52, 54, 56) nur eine geringe Histaminfreisetzung ($\leq 2\%$) auf die verschiedenen Reize hin aufwiesen (s. Tabellen 7 und 8).

Tabelle 7: Untersuchung der erhöhten spontanen Histaminfreisetzung ($\geq 15\%$) in % bei Patienten (n = 7) und Kontrollpersonen (n = 3) unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

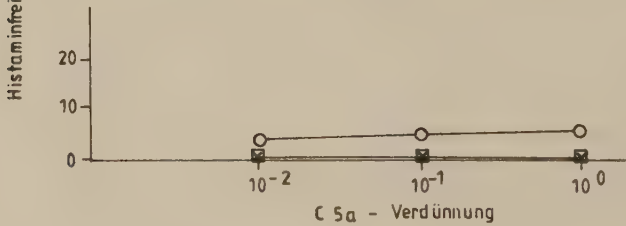
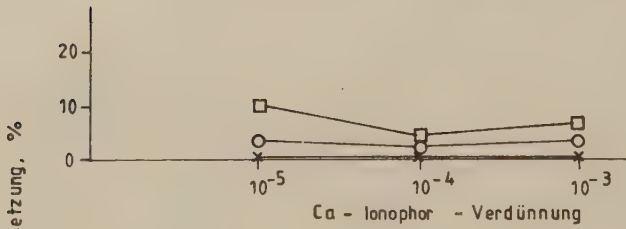
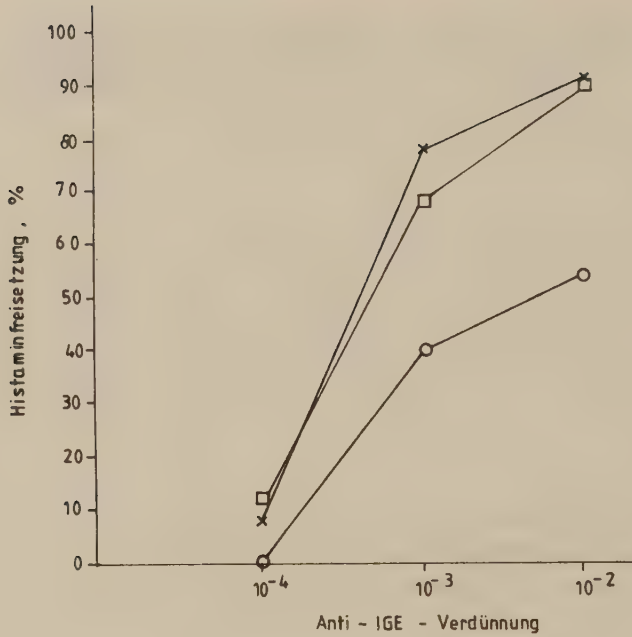
		LW o. Z.	LW + PGE_2	LW + Indo
Kontroll- personen	Nr. 14	20,3	17,7	15,4
	Nr. 15	22,6	6,9	6,8
	Nr. 43	19,5	10,3	52,2
Patienten	Nr. 4	18,7	4,3	28,2
	Nr. 10	16,6	19,5	91,6
	Nr. 13	22,6	6,9	6,8
	Nr. 26	27,2	23,7	19,9
	Nr. 27	16,6	14,1	25,9
	Nr. 29	19,8	15,1	31,7
	Nr. 39	18,7	24,9	28,1

Tabelle 8: Untersuchung der verminderten spontanen Histaminfreisetzung ($\leq 2\%$) in % bei Patienten (n = 4) und Kontrollpersonen (n = 4) unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

		LW o. Z.	LW + PGE_2	LW + Indo
Kontroll- personen	Nr. 1	0,0	1,5	13,2
	Nr.52	1,6	0,4	27,2
	Nr.54	1,8	0,0	24,3
	Nr.56	0,0	0,0	6,9
Patienten	Nr. 9	1,7	17,1	41,9
	Nr.23	0,5	0,8	3,7
	Nr.26	0,0	12,2	39,9
	Nr.49	2,0	4,4	26,5

Auch beim Vergleich innerhalb der Histaminwerte eines Zellspenders ergab sich teilweise eine unterschiedliche Freisetzungsbereitschaft. So hatten z. B. fünf Patienten (Nr.6,7,8,10,18) sehr hohe Werte nach Stimulation mit Anti-IgE, während sie auf C5a und Ca-Ionophor wenig oder überhaupt nicht mit einer Histaminfreisetzung reagierten. Die Leerwerte waren mit Ausnahme von Nr.10 (s. Tabelle 7) im Normbereich.(s. Abb. 1, Tabelle 9)

Im folgenden wurden Probanden mit hoher "Spontan-Releasability" ($\geq 15\%$) in der statistischen Berechnung unberücksichtigt gelassen.



x = o.Z.

o = + PGE₂

□ = + Indomethacin

Abb. 1a,b,c: zu Tabelle 9 (s.S.31)

Tabelle 9: Histaminfreisetzungen in % nach Stimulation mit Anti-IgE, Ca-Ionophor und C5a unter Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶M) und Indomethacin (10⁻⁶M) am Beispiel von Patient Nr.8 (allerg. Rhinitis)

	Verdün- nung	ohne Zusatz	+ PGE ₂	+ Indo
Anti-IgE	10 ⁻²	91,7	53,7	91,3
	10 ⁻³	77,9	40,0	68,7
	10 ⁻⁴	7,5	0,0	11,7
Ca-Iono	10 ⁻³	0,0	1,6	9,7
	10 ⁻⁴	0,0	0,8	3,9
	10 ⁻⁵	0,0	1,6	5,8
C5a	10 ⁰	0,0	4,2	0,0
	10 ⁻¹	0,0	4,1	0,0
	10 ⁻²	0,0	3,3	0,0

Andere Patienten wiederum hatten keinen HR nach Inkubation mit Ca-Ionophor , reagierten aber auf Anti-IgE und C5a (Nr.16,24,25,36). Auch fanden sich Zellspender, die fast ausschließlich auf Ca-Ionophor und Ca-Ionophor + PMA reagierten, während sie auf die anderen Stimulantien kaum Histamin freisetzten (Nr.31,33,45)

So ergaben sich die unterschiedlichsten Kombinationen von "High-Releasern" bei der einen Substanz und "Non-Releasern" bei einem anderen Stimulus. Bei der Untersuchung dieser verschiedenen Freisetzungsmuster fanden sich keine Zusammenhänge mit Diagnosen, Patientengruppeneinteilung nach Krankheitssymptomen, Gesamt-IgE-Werten, Status als Patient oder Kontrollperson sowie mit Alter und Geschlecht. Somit war das Merkmal "High-" oder "Non-Releaser" als Reaktion auf einen bestimmten Stimulus als individualspezifische Größe unbekannter Ursache einzustufen.

2. ABHÄNGIGKEIT DER HISTAMINFREISETZUNG VON ALTER UND GESCHLECHT

Die vorhandenen Testergebnisse wurden tabellarisch nach Alter und Geschlecht geordnet. Die untersuchten 43 Patienten hatten ein Durchschnittsalter von $\bar{x} = 30,8$ J., wobei der jüngste Patient 14 Jahre alt war und der älteste Patient 49 Jahre. Die Altersstruktur der 13 Kontrollpersonen war vergleichbar ($\bar{x} = 29,2$ J., jüngste Kontrollperson: 21 Jahre, älteste Kontrollperson 54 Jahre).

Tabelle 10: Vergleich der Altersstruktur zwischen Patienten und Kontrollpersonen

	Anzahl der Zellspender	Durchschnittsalter in J.	jüngster Zellsp.	ältester Zellsp.
Patienten	43	30,8	14	49
Kontrollpersonen	13	29,2	21	54

Bei keiner der Untersuchungen ergab sich ein Hinweis auf Änderung in der Histaminfreisetzung in Abhängigkeit von den untersuchten Altersgruppen.

Bei getrennter Betrachtung der 23 weiblichen und 20 männlichen Patienten zeigten sich teilweise deutliche Unterschiede in den Durchschnittswerten je nach appliziertem Stimulus.

Bei Betrachtung der Leerwerte und der 100%-Werte im Durchschnitt (mit PGE_2 oder Indomethacin) waren die Mittelwerte der weiblichen Patienten in vier Fällen höher als die der männlichen Patienten und bei der Leerwertbestimmung ohne Zusatz sogar signifikant höher ($p \leq 0,01$) (s. Tabelle 11).

Tabelle 11: Vergleich der Leerwerte und 100%-Werte im Durchschnitt zwischen weiblichen und männlichen Patienten unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

	weibl. Pat. n = 23	männl. Pat. n = 20	Signifi- kanzen
LW o.Z.	12,1 $\pm$ 5,7	7,3 $\pm$ 5,1	$p \leq 0,01$
LW + PGE_2	10,2 $\pm$ 6,1	9,5 $\pm$ 7,1	n.s.
LW + Indo	30,8 $\pm$ 23,2	31,4 $\pm$ 18,1	n.s.
100%-W. o.Z.	11,2 $\pm$ 7,8	15,6 $\pm$ 18,8	n.s.
100%-W. + PGE_2	17,1 $\pm$ 22,8	13,7 $\pm$ 9,5	n.s.
100%-W. + Indo	15,5 $\pm$ 13,5	11,9 $\pm$ 7,9	n.s.

Einheit der 100%-Werte: $\text{ng}/10^6$ Leukozyten

Tabelle 12: Anzahl der weiblichen und männlichen Patienten
in Prozentgruppen der Histaminfreisetzung am
Beispiel der spontanen Histaminfreisetzung ohne
Zusatz

Einteilung in %-Gruppen des HR	Anzahl der Patienten	
	w (n = 23) ($\bar{x}$ = 12,10%)	m (n = 20) ($\bar{x}$ = 7,37%)
0 - 5%	1	7
6 - 10%	10	10
11 - 15%	6	4
16 - 20%	4	2
> 20%	2	-

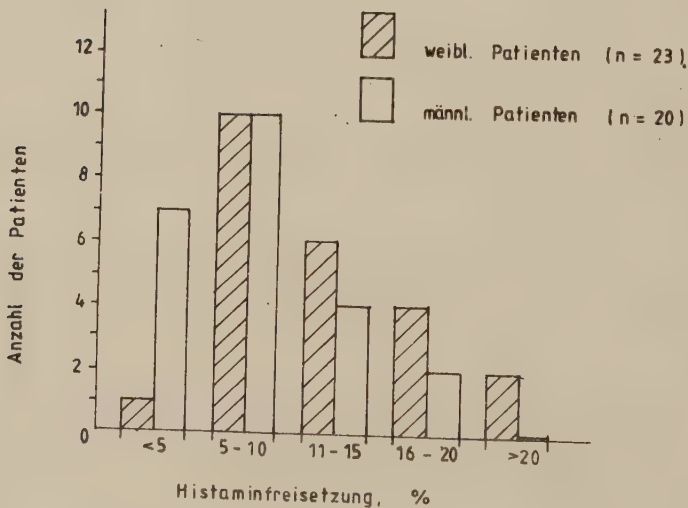


Abb. 2: zu Tabelle 12

Die Durchschnittswerte der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE und Ca-Ionophor ließen keinen geschlechtsspezifischen Unterschied erkennen: In jeweils der Hälfte der Versuche zeigten die männlichen bzw. die weiblichen Mittelwerte einen höheren Zahlenwert an.

Auffällig war das Überwiegen der höheren weiblichen Mittelwerte nach Stimulation mit C5a in 8 von 9 Fällen. Nur bei Stimulation der basophilen Leukozyten mit C5a (10^{-2}) in Kombination mit Indomethacin ergab sich ein höherer Wert für die männlichen Patienten mit $\bar{x} = 7,6 \%$ im Gegensatz zu $\bar{x} = 4,4 \%$ bei den Frauen (nicht signifikant). Die höchsten Histaminwerte im Rahmen der C5a-Inkubation wurden nach Stimulation der Proben mit unverdünntem C5a zusammen mit PGE_2 erzielt, wobei sich ein signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der weiblichen und männlichen Patienten zeigte ($p \leq 0,01$) (s. Tab. 14, Abb. 3).

Tabelle 13: Vergleich der C5a-induzierten Mittelwerte in % zwischen männlichen und weiblichen Patienten unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indo (10^{-6}M)

	C5a	w (n = 23)	m (n = 20)	Signifikanzen
Verdünnung	10^0 o. Z.	41,0 $\pm$ 18,0	28,8 $\pm$ 26,0	$p \leq 0,01$
	10^{-1} o. Z.	13,4 $\pm$ 13,6	8,2 $\pm$ 10,6	n.s.
	10^{-2} o. Z.	2,3 $\pm$ 3,8	1,8 $\pm$ 2,7	n.s.
	10^0 + PGE_2	43,4 $\pm$ 20,5	24,7 $\pm$ 23,7	$p \leq 0,01$
	10^{-1} + PGE_2	10,5 $\pm$ 8,4	7,8 $\pm$ 8,0	n.s.
	10^{-2} + PGE_2	1,8 $\pm$ 2,6	1,6 $\pm$ 2,2	n.s.
	10^0 + Indo	20,0 $\pm$ 14,3	15,3 $\pm$ 19,9	n.s.
	10^{-1} + Indo	6,3 $\pm$ 7,5	5,7 $\pm$ 11,0	n.s.
	10^{-2} + Indo	4,4 $\pm$ 9,4	7,6 $\pm$ 15,8	n.s.

Tabelle 14: Anteil der weiblichen und männlichen Patienten in Prozentgruppen der Histaminfreisetzung nach Inkubation mit C5a (10^0) und PGE₂ (10^{-6} M)

Einteilung in %-Gruppen des HR	Anzahl der Patienten	
	w (n = 23) ($\bar{x}$ = 43,46%)	m (n = 20) ($\bar{x}$ = 24,76%)
0 - 10%	2	7
11 - 20%	3	3
21 - 30%	1	3
31 - 40%	2	4
41 - 51%	4	1
51 - 60%	9	-
61 - 70%	-	1
71 - 80%	1	-
81 - 90%	1	-
91 - 100%	-	1

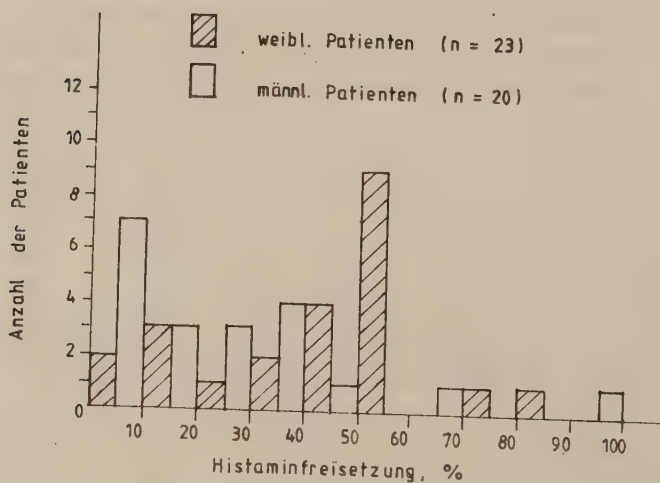


Abb. 3: zu Tabelle 14

Auch die Durchschnittswerte nach Inkubation mit C5a (10^0) ohne Zusatz unterschieden sich signifikant ($p \leq 0,01$) bei Männern ($\bar{x} = 28,8 \% \pm 26,0 \%$) und Frauen ($\bar{x} = 41,0 \% \pm 18,0 \%$)

Ebenfalls ergaben sich nach Inkubation mit PMA in 11 von 18 Stimulationen höhere Werte für die weiblichen Patienten. Allerdings war hier die Anzahl der Zellspender bei den Frauen ($n = 14$) und Männern ($n = 8$) zu gering und auch die Histaminfreisetzung mit einigen Werten unter 5% nicht aussagekräftig genug, einen eindeutigen Trend nach Stimulation mit PMA feststellen zu können.

Weitere Untersuchungen müssen klären, ob bei Anwendung unterschiedlicher Stimuli ein geschlechtsspezifischer Trend in der Histaminfreisetzung besteht.

3. EINFLUSS VON PGE₂ UND INDOMETHACIN AUF DIE HISTAMIN-FREISETZUNG BEI NORMALPERSONEN

Die Histaminfreisetzung aus peripheren Leukozyten wurde bei 13 nicht-atopischen Kontrollpersonen untersucht. Die sieben männlichen und sechs weiblichen Probanden waren zwischen 21 und 55 Jahre alt.

3.1 UNTERSUCHUNG DER SPONTANEN HISTAMINFREISETZUNG

Die Leerwerte (= Spontanrelease) wurden in % aus dem Gesamthistamingehalt (= 100%-Wert) ermittelt. Bei den 13 Normalpersonen ergab sich eine basale Histaminsekretion von $\bar{x} = 8,9 \% \pm 7,7 \%$ im Durchschnitt. Nach Inkubation mit PGE₂ sank die mittlere Histaminfreisetzung auf $\bar{x} = 6,6 \% \pm 6,0 \%$. Durch Inkubation mit Indomethacin wurde ein Durchschnittswert von $\bar{x} = 24,2 \% \pm 18,8 \%$ erzielt, d.h. eine Steigerung um fast 200% im Vergleich zur Basalsekretion.

Tabelle 15: Mittelwerte $\bar{x}$ in % der spontanen Histaminfreisetzung bei Normalpersonen (n = 13) unter Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indomethacin (10^{-6} M)

Leerwert	o.Z.	+ PGE ₂	+ Indo
in %	8,9 $\pm$ 7,7	6,6 $\pm$ 6,0	24,2 $\pm$ 18,8

3.2 UNTERSUCHUNG DER GESAMTHISTAMINWERTE

Mit 70%iger Perchlorsäure wurden die basophilen Leukozyten zerstört, um den Gesamtgehalt an Histamin bestimmen zu können. Der 100%-Wert lag bei den Kontrollpersonen ($n = 13$) im Durchschnitt bei $\bar{x} = 22,4 \text{ ng}/10^6\text{L.} \pm 15,1 \text{ ng}/10^6\text{L.}$ Nach Inkubation mit PGE_2 stieg der Gesamthistaminwert geringfügig an auf $\bar{x} = 31,4 \text{ ng}/10^6\text{L.} \pm 25,2 \text{ ng}/10^6\text{L.}$ Eine Erhöhung der Histaminmenge nach PGE_2 -Vorinkubation wurde auch bei den Gesamthistaminbestimmungen der Gruppen III und IV beobachtet (s. Kapitel 4.2). Die Inkubation mit Indomethacin erbrachte einen 100%-Wert von $\bar{x} = 24,6 \text{ ng}/10^6\text{L.} \pm 17,3 \text{ ng}/10^6\text{L.}$, der somit zwischen dem reinen Gesamthistaminwert von $\bar{x} = 22,4 \text{ ng}/10^6\text{L.}$ und dem PGE_2 -stimulierten von $\bar{x} = 31,4 \text{ ng}/10^6\text{L.}$ liegt.

Tabelle 16: Mittelwerte $\bar{x}$ in $\text{ng}/10^6\text{L.}$ der Gesamthistaminwerte bei Normalpersonen ($n = 13$) unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

100%-Wert	o.Z.	+ PGE_2	+ Indo
in $\text{ng}/10^6\text{L.}$	$22,4 \pm 15,1$	$31,4 \pm 25,2$	$24,6 \pm 17,3$

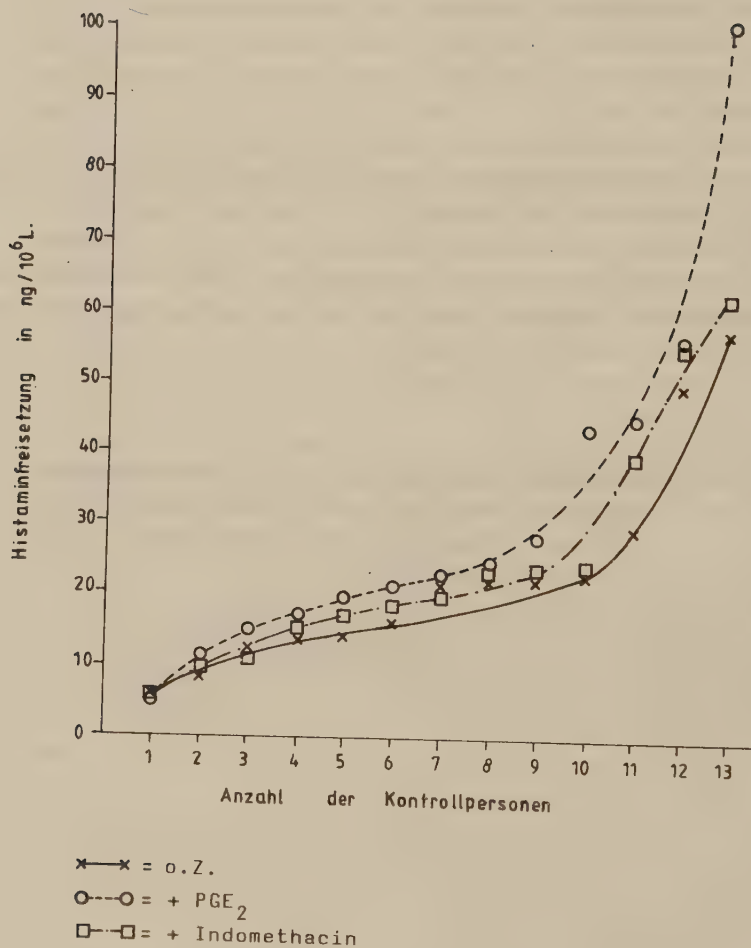


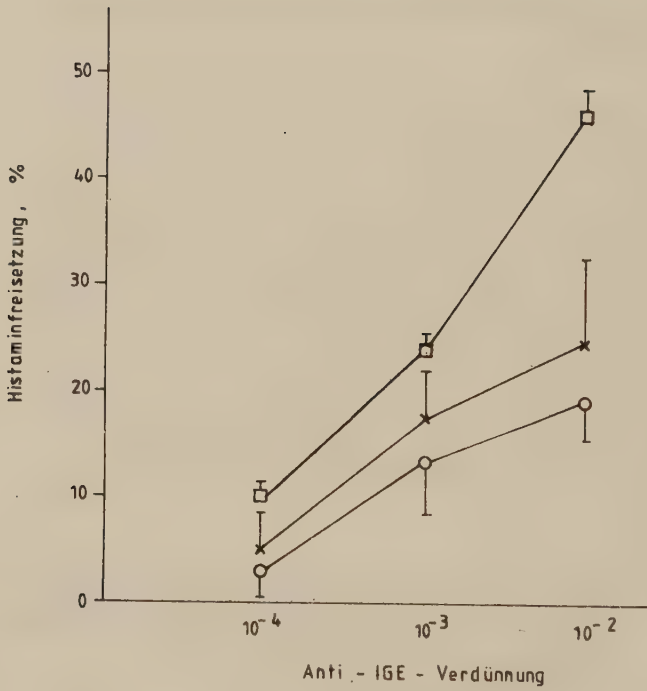
Abb. 4: Darstellung der Gesamthistaminwerte bei Kontrollpersonen ($n = 13$) unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

3.3 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT ANTI-IGE

Der höchste Histaminmittelwert bei Normalpersonen nach Anti-IgE-Stimulation wurde jeweils in der Verdünnung 10^{-2} erreicht (auch bei zusätzlicher Vorinkubation mit PGE_2 und Indomethacin). Mit steigender Verdünnung des Stimulus (Anti-IgE 10^{-3} , 10^{-4}) sank der Histamingehalt in den Überständen, auch in Verbindung mit den getesteten Pharmaka. Dabei konnte man feststellen, daß PGE_2 eine hemmende Wirkung auf den Anti-IgE-vermittelten HR ($\bar{x} = 19,2 \% \pm 22,7 \%$) ausübte (o.Z.: $\bar{x} = 24,3 \% \pm 23,2 \%$), während Indomethacin die Histaminfreisetzung signifikant steigern konnte ($\bar{x} = 45,9 \% \pm 29,2 \%$; $p \leq 0,05$) im Vergleich zum HR nach Anti-IgE-Stimulation ohne Zusatz.

Tabelle 17: Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)
auf die Anti-IgE-vermittelte Histaminfreisetzung
 $\bar{x}$ in % bei Kontrollpersonen (n = 13)

Anti-IgE Verdünnung	o.Z.	mit PGE_2	mit Indo	Signifi- kanzen o.Z./Indo
10^{-2}	$24,3 \pm 23,2$	$19,2 \pm 22,7$	$45,9 \pm 29,2$	$p \leq 0,05$
10^{-3}	$17,0 \pm 20,7$	$13,3 \pm 20,4$	$23,7 \pm 18,1$	n.s.
10^{-4}	$4,1 \pm 4,5$	$2,7 \pm 2,5$	$9,4 \pm 8,5$	n.s.



x = o.Z.

O = + PGE₂

□ = + Indomethacin

Abb. 5: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % nach Anti-IgE-Stimulation bei Kontrollpersonen (n = 13) unter Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indomethacin (10^{-6} M)

3.4 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT CA-IONOPHOR

Die Histaminwerte nach Stimulation mit Ca-Ionophor in der kleinsten Verdünnung (10^{-3}) ließen sich durch Vorinkubation mit PGE_2 und Indomethacin nur gering beeinflussen. So ergab sich für die "reine" Ca-Ionophor-induzierte Reaktion ein Mittelwert von $\bar{x} = 22,8 \% \pm 25,3 \%$, mit PGE_2 stieg der Durchschnittswert auf $\bar{x} = 25,1 \% \pm 28,3 \%$ mit allgemein auffällig hohen Standardabweichungen (nicht signifikant). Nach Inkubation mit Ca-Ionophor in höherer Verdünnungsstufe (10^{-4}) zeigten sich bei der reinen Stimulation ohne Zusatz und bei der Vorinkubation mit PGE_2 ähnliche Histaminfreisetzungen: $\bar{x} = 4,5 \% \pm 3,8 \%$ bzw. $\bar{x} = 4,3 \% \pm 7,1 \%$. Nach Vorinkubation mit Indomethacin setzten die basophilen Leukozyten jedoch signifikant mehr frei ($\bar{x} = 19,6 \% \pm 23,4 \%$; $p \leq 0,05$). In der höchsten getesteten Ca-Ionophor-Verdünnung von 10^{-5} sank der Histaminwert nochmals bei Ca-Ionophor o.Z. auf $\bar{x} = 2,8 \% \pm 4,2 \%$, zusammen mit PGE_2 auf $\bar{x} = 3,1 \% \pm 6,3 \%$ und stieg nach Vorinkubation mit Indomethacin wiederum signifikant an im Vergleich zur "reinen" Ca-Ionophor-Stimulation auf $\bar{x} = 12,3 \% \pm 13,4 \%$; $p \leq 0,05$).

Tabelle 18: Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)
auf die Ca-Ionophor-vermittelte Histaminfrei-
setzung $\bar{x}$ in % bei Kontrollpersonen (n = 13)

Ca-Iono. Verdünnung	o.Z.	mit PGE_2	mit Indo	Signifi- kanzen o.Z./Indo
10^{-3}	$22,8 \pm 25,3$	$25,1 \pm 28,3$	$28,7 \pm 28,3$	n.s.
10^{-4}	$4,5 \pm 3,8$	$4,3 \pm 7,1$	$19,6 \pm 23,4$	$p \leq 0,05$
10^{-5}	$2,8 \pm 4,2$	$3,1 \pm 6,3$	$12,3 \pm 13,4$	$p \leq 0,05$

3.5 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT C5a

Das Anaphylatoxin C5a stellte sich als stärkster der getesteten Histaminliberatoren heraus. In unverdünnter Anwendung ergab sich ein Mittelwert von $\bar{x} = 44,3 \% \pm 28,6 \%$, in der Verdünnung von 10^{-1} sank der Durchschnittswert auf $\bar{x} = 12,0 \% \pm 10,6 \%$ und bei der Verdünnung 10^{-2} sogar auf $\bar{x} = 5,0 \% \pm 8,5 \%$. Bei zusätzlicher Stimulation mit PGE_2 nahm der prozentuale Mittelwert nur wenig ab ($\bar{x} = 40,3 \% \pm 30,3 \%$), bei C5a (10^{-1}) + PGE_2 sank er auf $\bar{x} = 11,8 \% \pm 17,3 \%$ und bei C5a (10^{-2}) + PGE_2 auf $\bar{x} = 5,7 \% \pm 8,8 \%$.

Nach Vorinkubation mit Indomethacin ließ sich die C5a-induzierte Histaminfreisetzung nicht steigern. Der Histaminmittelwert sank überraschend um 17% von $\bar{x} = 44,3 \% \pm 28,6 \%$ (Stimulation ohne Zusatz) auf $\bar{x} = 27,8 \% \pm 22,7 \%$. Diese Hemmung der Histaminfreisetzung durch Vorinkubation mit Indomethacin konnte auch nach Inkubation mit verdünnten C5a-Dosen beobachtet werden. Nach C5a (10^{-1}) + Indo lag der Mittelwert bei $\bar{x} = 10,1 \% \pm 14,2 \%$ im Vergleich zu $\bar{x} = 12,0 \% \pm 10,6 \%$ nach Stimulation ohne Zusatz. In der höchsten Verdünnungsstufe von C5a (10^{-2}) übte Indomethacin keinen Effekt mehr aus.

Tabelle 19: Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M) auf die C5a-vermittelte Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Kontrollpersonen (n = 13)

C5a-Verdünnung	o.Z.	mit PGE_2	mit Indo	Signif. o.Z./Indo
10^0	44,3 $\pm$ 28,6	40,3 $\pm$ 30,3	27,8 $\pm$ 22,7	n.s.
10^{-1}	12,0 $\pm$ 10,6	11,8 $\pm$ 17,3	10,1 $\pm$ 14,2	n.s.
10^{-2}	5,0 $\pm$ 8,5	5,7 $\pm$ 8,8	7,4 $\pm$ 9,8	n.s.

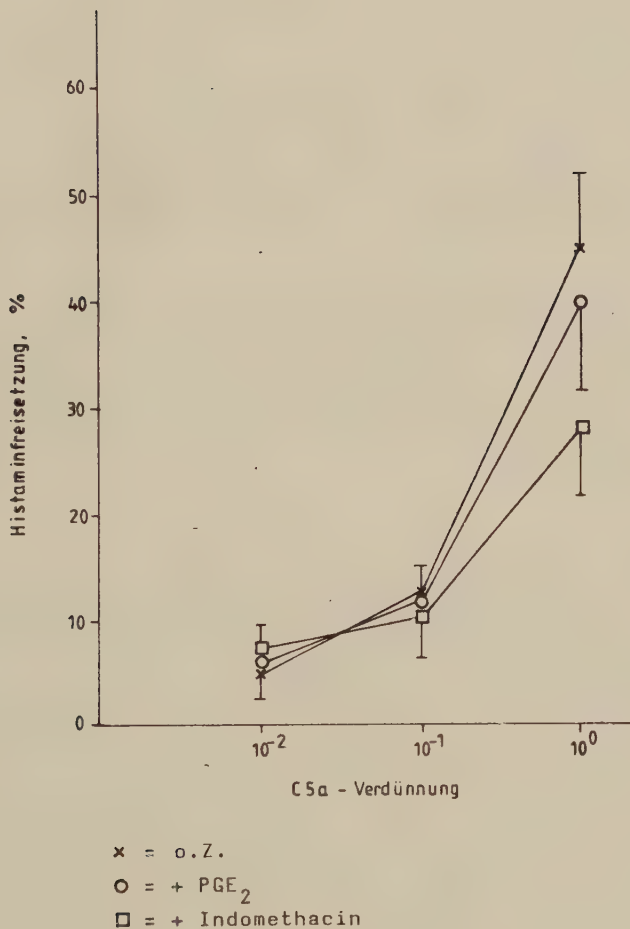


Abb. 6: Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶M) und Indomethacin (10⁻⁶M)
auf die C5a-vermittelte Histaminfreisetzung bei
Kontrollpersonen (n = 13)

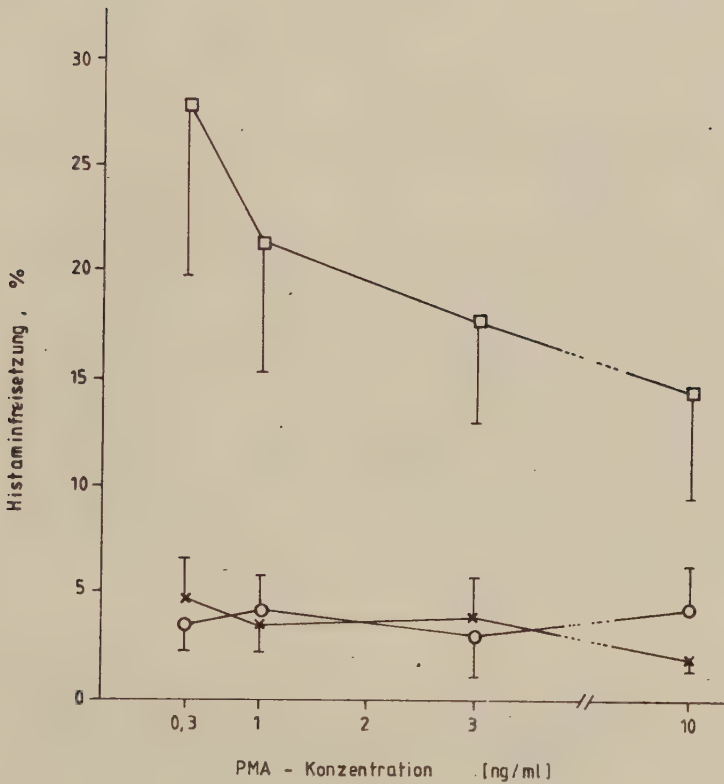
3.6 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT PMA

Der Phorbol-ester PMA wurde an insgesamt 10 Kontrollpersonen (m = 7, f = 3) getestet. PMA allein war in den angewandten Konzentrationen (10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml) nicht in der Lage, große Histaminmengen freizusetzen. Die Mittelwerte schwanken zwischen $\bar{x} = 1,7 \% \pm 1,9 \%$ (PMA 10 ng/ml) und einem Maximum von $\bar{x} = 4,6 \% \pm 6,3 \%$ bei PMA (0,3 ng/ml) nach Inkubation ohne Zusatz. Vorinkubation mit PGE_2 beeinflusste die Werte nur wenig.

Nach Vorinkubation mit Indomethacin kam es in allen vier PMA-Konzentrationen zu einer signifikanten Steigerung der Histaminwerte ($p \leq 0,01$) im Vergleich zu den PMA-vermittelten Werten o.Z., wobei auch hier wiederum der höchste Histamin-durchschnittswert nach Inkubation mit der PMA-Konzentration 0,3 ng/ml erreicht wurde.

Tabelle 20: Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)
auf die PMA-vermittelte Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in
% bei Kontrollpersonen (n = 10)

PMA in ng/ml	o.Z.	mit PGE_2	mit Indo	Signif. o.Z./Indo
10	1,7 $\pm$ 1,9	4,1 $\pm$ 6,1	14,2 $\pm$ 16,8	$p \leq 0,01$
3	3,5 $\pm$ 5,3	2,8 $\pm$ 5,5	17,6 $\pm$ 15,2	$p \leq 0,01$
1	3,1 $\pm$ 3,7	3,7 $\pm$ 5,1	21,2 $\pm$ 18,8	$p \leq 0,01$
0,3	4,6 $\pm$ 6,3	3,2 $\pm$ 3,5	27,1 $\pm$ 24,6	$p \leq 0,01$



- x = o.Z.
o = + PGE₂
□ = + Indomethacin

Abb. 7: Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶) und Indomethacin (10⁻⁶) auf die PMA-vermittelte Histaminfreisetzung bei Kontrollpersonen (n = 10)

3.7 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH DOPPELSTIMULATION MIT PMA + ANTI-IGE BZW. PMA + CA-IONOPHOR

Das Zusammenwirken von PMA (1 ng/ml) und Anti-IgE in der kleinsten angewandten Verdünnung von 10^{-2} wurde sowohl o.Z., als auch nach Vorinkubation mit PGE_2 und Indomethacin ausgewertet. Nach der gleichen Versuchsanordnung wurde PMA (1 ng/ml) zusammen mit Ca-Ionophor in der niedrigsten Verdünnungsstufe von 10^{-3} getestet (d.h. o.Z., mit PGE_2 , mit Indomethacin). Generell konnte eine erhöhte Histaminsekretion nach Doppelstimulation beobachtet werden. Die zweifach stimulierten Mittelwerte mit PMA + Anti-IgE lagen insgesamt höher als die Mittelwerte nach Inkubation mit PMA + Ca-Ionophor. Auffällig war, daß die Histaminmittelwerte durch die Stimulation mit PMA + Anti-IgE gesteigert werden konnten im Vergleich zur einfachen Inkubation mit Anti-IgE (nicht signifikant), auch unter Einfluß von PGE_2 und Indomethacin, während dieser zusätzliche Sezernierungsreiz bei Ca-Ionophor nur nach Zusatz von Indomethacin beobachtet werden konnte.

Tabelle 21: Vergleich der Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % nach Stimulation mit Anti-IgE (10^{-2}) und Ca-Ionophor (10^{-3}) pur und mit PMA (1 ng/ml) unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indo (10^{-6}M)

Anti-IgE-Verdünnung	o.Z.	mit PGE_2	mit Indo
(n = 13) 10^{-2}	24,3 $\pm$ 23,2	19,2 $\pm$ 22,7	45,9 $\pm$ 29,2
(n = 10) 10^{-2} +PMA (1ng/ml)	32,3 $\pm$ 25,1	23,7 $\pm$ 25,0	55,5 $\pm$ 35,4
Ca-Iono-Verdünnung			
(n = 13) 10^{-3}	22,8 $\pm$ 25,3	25,1 $\pm$ 28,3	28,7 $\pm$ 28,3
(n = 10) 10^{-3} +PMA (1ng/ml)	22,0 $\pm$ 15,3	21,0 $\pm$ 22,0	46,5 $\pm$ 32,3

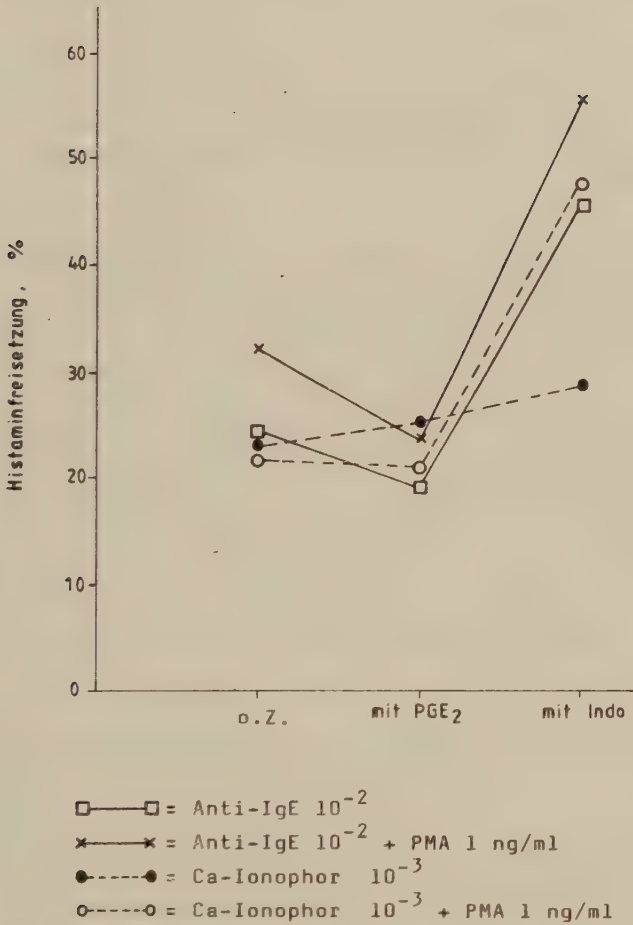


Abb. 8: Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indomethacin (10^{-6} M) auf die Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE (10^{-2}) und Ca-Ionophor (10^{-3}) o.Z. und mit PMA (1 ng/ml) bei Kontrollpersonen (n = 13)

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß Anti-IgE + PMA gemeinsam in der Lage sind, die Histaminsekretion um 10% gegenüber der reinen Anti-IgE-Stimulation zu steigern (auch unter Einfluß von Indomethacin), (nicht signifikant).

Der Hemmeffekt von PGE_2 wirkt sich allerdings auch auf die Doppelstimulation aus und somit konnte durch die zusätzliche PMA-Anwendung nur eine geringe Steigerung um 4,5% erzielt werden.

Im Fall von Ca-Ionophor zusammen mit PMA (ohne Zusatz) stieg der Histaminwert nicht an. Unter Prostaglandineinfluß sank der Mittelwert sogar um 4,1% nach der zweifachen Stimulation, während er unter Indomethacin gesteigert werden konnte (nicht signifikant). Da die Doppelstimulation (Ca-Ionophor + PMA) ansonsten keine Erhöhung des durchschnittlichen Histaminwerts bewirken konnte, muß man annehmen, daß das Zusammenspiel von PMA und Indomethacin in diesem Fall für die Steigerung des HR verantwortlich zu machen ist.

4. EINFLUSS VON PGE_2 UND INDOMETHACIN AUF DIE IN-VITRO "HISTAMIN-RELEASABILITY" BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Das Blut der insgesamt 43 Patienten war von 23 weiblichen und 20 männlichen Testpersonen entnommen worden. Wie bereits erwähnt (s. Kapitel B, 1.), wurden die Patienten in vier Untergruppen entsprechend ihrer Krankheitserscheinungen eingeteilt.

Die erste Gruppe bilden die Patienten mit atopischem Ekzem (Gr.I, n = 8). Die zweite Gruppe faßt 16 Patienten mit respiratorischen Atopien zusammen, d.h. allergische Rhinitis oder allergisches Asthma bronchiale (Gr.II, n = 16). 13 Zellspender mit Bienen- oder Wespenallergie oder Urtikaria als Reaktion auf Arzneimittel oder Nahrungsmittel wurden in Gruppe III eingeordnet (Gr.III, n = 13). Gruppe IV umfaßt sechs Patienten mit allergischem Kontaktekzem (Gr.IV, n = 6). Um die Histaminfreisetzungen exakter beurteilen zu können, wurden die einzelnen Gruppen (mit gleichmäßiger Verteilung der weiblichen und männlichen Patienten auf die vier Gruppen) mit der Gruppe der Kontrollpersonen verglichen.

4.1 UNTERSUCHUNG DER SPONTANEN HISTAMINFREISETZUNG BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Die basale Histaminsekretion der Patienten zeigte keinen Unterschied zu den Kontrollpersonen. Die Mittelwerte befanden sich zwischen $\bar{x} = 8,4 \% \pm 4,1 \%$ (Gr.IV) und $\bar{x} = 10,5 \% \pm 7,4 \%$ (Gr.II) im Vergleich zu $\bar{x} = 8,9 \% \pm 7,7 \%$ bei den Normalpersonen.

Die Vorinkubation mit PGE_2 hatte keinen Einfluß auf den "Spontanrelease" bei allen vier Patientengruppen. Der Histamindurchschnittswert bei den Kontrollpersonen nach

PGE_2 -Stimulation lag jedoch um 2 - 3% unter den Patientenergebnissen.

In der gleichen Größenordnung wie bei den Kontrollpersonen konnte Indomethacin die basale Histaminfreisetzung bei den Patienten steigern. Bei der Gruppe IV (allergisches Kontaktekzem) ergab sich sogar ein signifikanter Unterschied im Vergleich zu dem Histamindurchschnittswert bei den 13 Kontrollpersonen (Gr.IV: $\bar{x} = 45,8 \% \pm 21,9 \%$; Kontrollpersonen: $\bar{x} = 24,2 \% \pm 18,8 \%$; $p \leq 0,05$). (s. Tab.22, Abb.9)

Tabelle 22: Spontane Histaminfreisetzungen $\bar{x}$ in % der Patientengruppen unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

Leerwert	Kontr. (n = 13)	Gr. I (n = 8)	Gr. II (n = 16)	Gr. III (n = 13)	Gr. IV (n = 6)	Signifi- kanzen Gr. IV/Kontr.
o. Z.	8,9 ± 7,7	8,9 ± 4,2	10,5 ± 7,4	10,3 ± 5,4	8,4 ± 4,1	n.s.
+ PGE_2	6,6 ± 6,0	9,3 ± 6,8	10,3 ± 7,8	10,1 ± 5,7	8,9 ± 5,6	n.s.
+ Indo	24,2 ± 18,8	31,2 ± 29,4	24,7 ± 17,4	29,6 ± 14,9	45,8 ± 21,9	$p \leq 0,05$

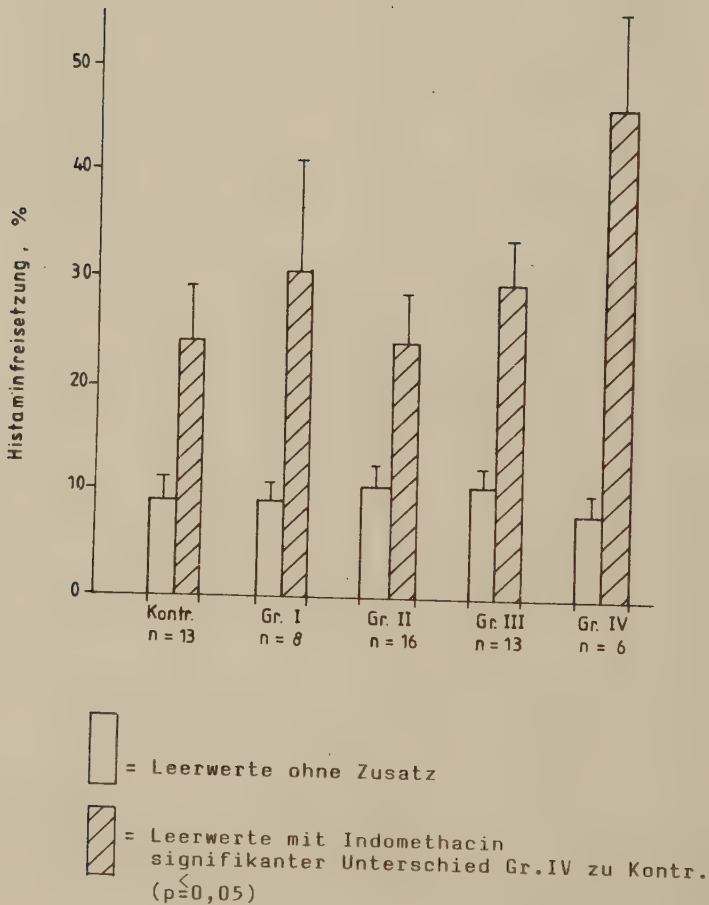


Abb. 9: Einfluß von Indomethacin ($10^{-6}M$) auf die Leerwerte im Vergleich zu den Leerwerten ohne Zusatz bei Patienten und Kontrollpersonen

4.2 UNTERSUCHUNG DER GESAMTHISTAMINWERTE BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Im Gesamtgehalt von Histamin unterscheiden sich die Leukozytensuspensionen der vier Patientengruppen nicht von denen der Kontrollpersonen.

In Gruppe III und IV lagen die Gesamthistamingehalte der Ausgangssuspensionen bei $\bar{x} = 13,1 \text{ ng}/10^6 \text{ L.} \pm 9,4 \text{ ng}/10^6 \text{ L.}$ bzw. $\bar{x} = 13,2 \text{ ng}/10^6 \text{ L.} \pm 4,4 \text{ ng}/10^6 \text{ L.}$ und wurden wie bei den Normalpersonen unter PGE_2 -Einfluß leicht gesteigert (Gr.III: $\bar{x} = 20,7 \text{ ng}/10^6 \text{ L.} \pm 25,8 \text{ ng}/10^6 \text{ L.}$, Gr.IV: $\bar{x} = 14,7 \text{ ng}/10^6 \text{ L.} \pm 11,8 \text{ ng}/10^6 \text{ L.}$). Die Inkubation mit Indomethacin beeinflusste die Gesamthistaminmenge nicht.

Auch sonst hatten die Pharmaka keine messbaren Auswirkungen: alle drei Histaminmittelwerte (o.Z, mit PGE_2 , mit Indomethacin) lagen im gleichen ng-Bereich, wobei die Indomethacin-stimulierten Werte jeweils noch unter den 100%-Werten ohne Zusatz lagen.

Auffällig waren die extrem niedrigen Gesamthistaminwerte der Gruppe II, die durch PGE_2 und Indomethacin nicht beeinflusst wurden. (s. Tab. 23, Abb. 10)

Tabelle 23: Gesamthistaminwerte $\bar{x}$ in ng/10⁶ L. der Patientengruppen unter Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶M) und Indomethacin (10⁻⁶M)

100%-Wert	Kontr. (n = 13)	Gr. I (n = 8)	Gr. II (n = 16)	Gr. III (n = 13)	Gr. IV (n = 6)	Signifi- kanzen Gr. II/Kontr.
o. Z.	22,4 ± 15,1	20,2 ± 28,2	10,8 ± 7,2	13,1 ± 9,4	13,2 ± 4,4	$\leq 0,01$
+ PGE ₂	31,4 ± 25,2	20,0 ± 21,6	10,4 ± 6,9	20,7 ± 25,8	14,7 ± 11,8	$\leq 0,01$
+ Indo	24,6 ± 17,3	18,5 ± 17,7	10,4 ± 4,9	14,2 ± 9,1	13,8 ± 10,8	$\leq 0,01$

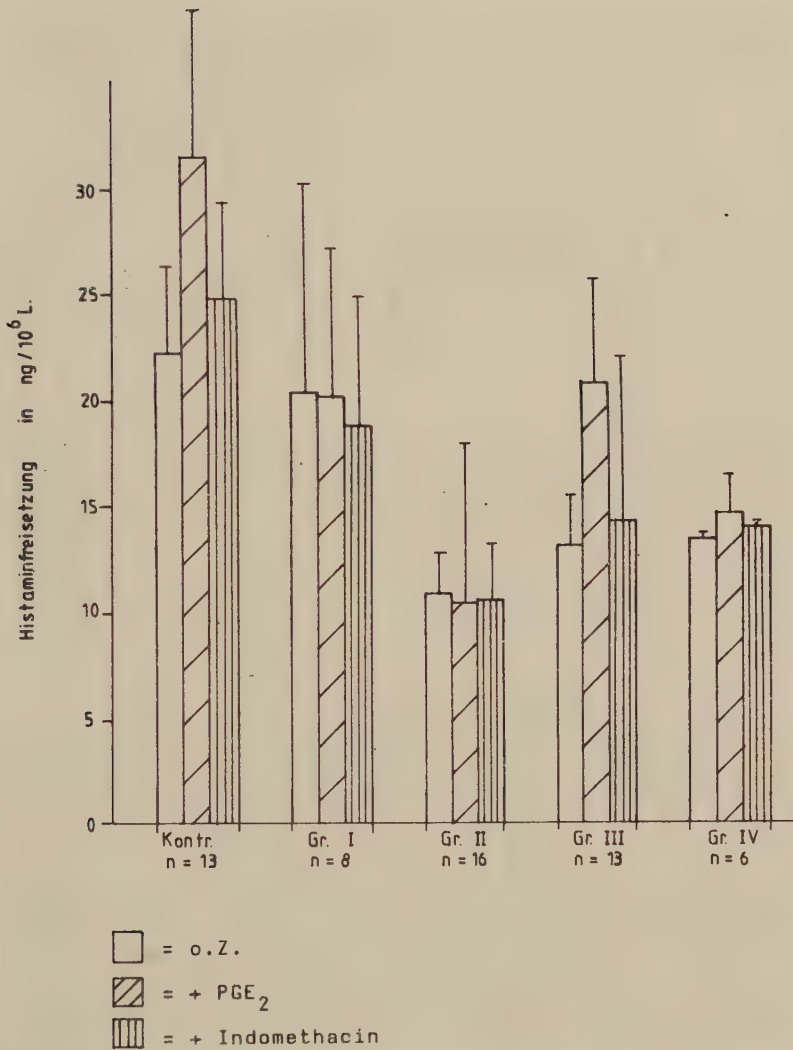


Abb. 10: Darstellung der Gesamthistaminwerte von Patienten und Kontrollpersonen unter Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶M) und Indomethacin (10⁻⁶M)

4.3 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT ANTI-IGE BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Die Anti-IgE-vermittelte Histaminfreisetzung zeigte die gleichen Dosis-Wirkungskurven wie bei der Kontrollgruppe (s. Kapitel C, 3.3). So erreichte die Histaminfreisetzung jeweils nach Anti-IgE-Stimulation in der Verdünnung 10^{-2} den höchsten Wert (auch in Verbindung mit PGE_2 und Indomethacin) und nahm entsprechend der höheren Anti-IgE-Verdünnungen in allen Gruppen ab.

Mit $\bar{x} = 33,9 \% \pm 24,0 \%$ wurde bei den Patienten mit atopischem Ekzem (Gr.I) die höchste Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE ohne Zusatz erreicht (liegt knapp unter der Signifikanzschwelle, verglichen mit den Kontrollpersonen). Ebenso wies die Gruppe I nach PGE_2 - und Indomethacininkubation die höchsten Durchschnittswerte im Vergleich zu den Kontrollpersonen und den anderen Patientengruppen auf.

PGE_2 zeigte nur bei Patienten der Gr.II und IV, besonders bei geringeren Anti-IgE-Verdünnungen, einen Hemmeffekt auf die Histaminfreisetzung, während sich diese bei Gr.I und III durch PGE_2 nicht beeinflussen ließ.

Indomethacin hatte bei allen Patientengruppen den erwarteten Histaminanstieg zur Folge. Die Durchschnittswerte der Gr.I konnten sogar nach Inkubation mit Anti-IgE 10^{-2} + Indomethacin und Anti-IgE 10^{-3} + Indomethacin im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant gesteigert werden: Die Patienten mit atopischem Ekzem (Gr.I) hatten einen Mittelwert von $\bar{x} = 61,7 \% \pm 36,0 \%$ gegenüber den 13 Kontrollpersonen mit $\bar{x} = 45,9 \% \pm 29,0 \%$ ($p \leq 0,05$) nach Stimulation mit Anti-IgE 10^{-2} + Indomethacin. Auf Anti-IgE 10^{-3} + Indomethacin reagierten die Patienten der Gr.I mit einem Durchschnittswert von $\bar{x} = 35,7 \% \pm 24,0 \%$ im Vergleich zu $\bar{x} = 23,7 \% \pm 18,0 \%$ bei den Kontrollpersonen ($p \leq 0,01$)

Tabelle 24: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Patientengruppen nach Inkubation mit Anti-IgE unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

Anti-IgE- Verdünnung	Kontr. (n = 13)	Gr. I (n = 8)	Gr. II (n = 16)	Gr. III (n = 13)	Gr. IV (n = 6)	Signifi- kanzen Gr. I/Kontr.
10^{-2} o. Z.	24,3 ± 23,2	33,9 ± 24,4	28,2 ± 26,0	16,3 ± 22,8	29,1 ± 23,5	n.s.
10^{-3} o. Z.	17,0 ± 20,7	19,8 ± 23,0	22,0 ± 19,9	12,8 ± 19,1	11,9 ± 14,4	n.s.
10^{-4} o. Z.	4,1 ± 4,5	1,9 ± 2,6	2,7 ± 2,9	2,0 ± 2,5	2,6 ± 3,6	n.s.
10^{-2} + PGE_2	19,2 ± 22,7	30,0 ± 22,0	23,0 ± 20,9	19,1 ± 19,7	25,9 ± 19,6	n.s.
10^{-3} + PGE_2	13,3 ± 20,4	18,3 ± 16,1	15,7 ± 15,6	12,8 ± 17,7	10,0 ± 10,6	n.s.
10^{-4} + PGE_2	2,7 ± 2,5	1,3 ± 1,8	3,8 ± 3,8	1,7 ± 2,5	3,5 ± 3,7	n.s.
10^{-2} + Indo	45,9 ± 29,2	61,7 ± 36,1	44,8 ± 28,3	34,3 ± 26,3	46,3 ± 27,7	$p \leq 0,05$
10^{-3} + Indo	23,7 ± 18,1	35,7 ± 24,0	34,2 ± 26,0	23,1 ± 23,7	14,5 ± 15,6	$p \leq 0,01$
10^{-4} + Indo	9,4 ± 8,5	12,8 ± 12,6	11,7 ± 17,1	8,4 ± 10,4	3,3 ± 5,3	n.s.

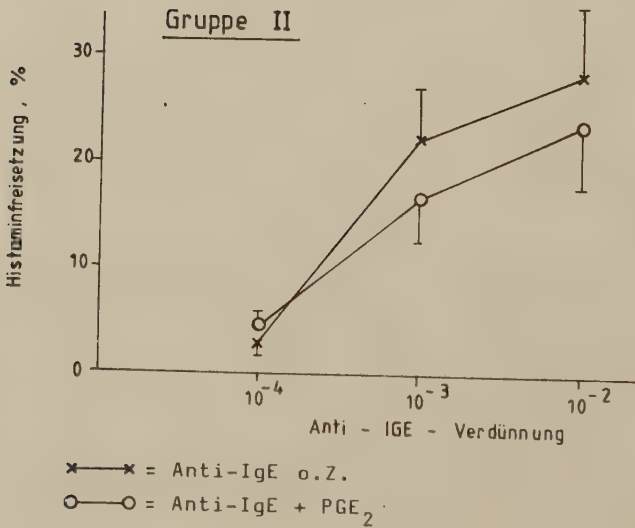
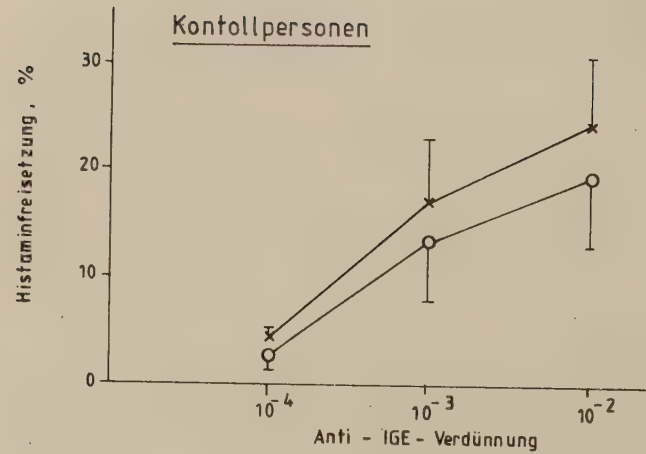


Abb. 11: Hemmung der Histaminsekretion durch PGE₂ (10^{-6} M) bei Patienten mit respiratorischen Atopien (Gr.II) im Vergleich zur Kontrollgruppe

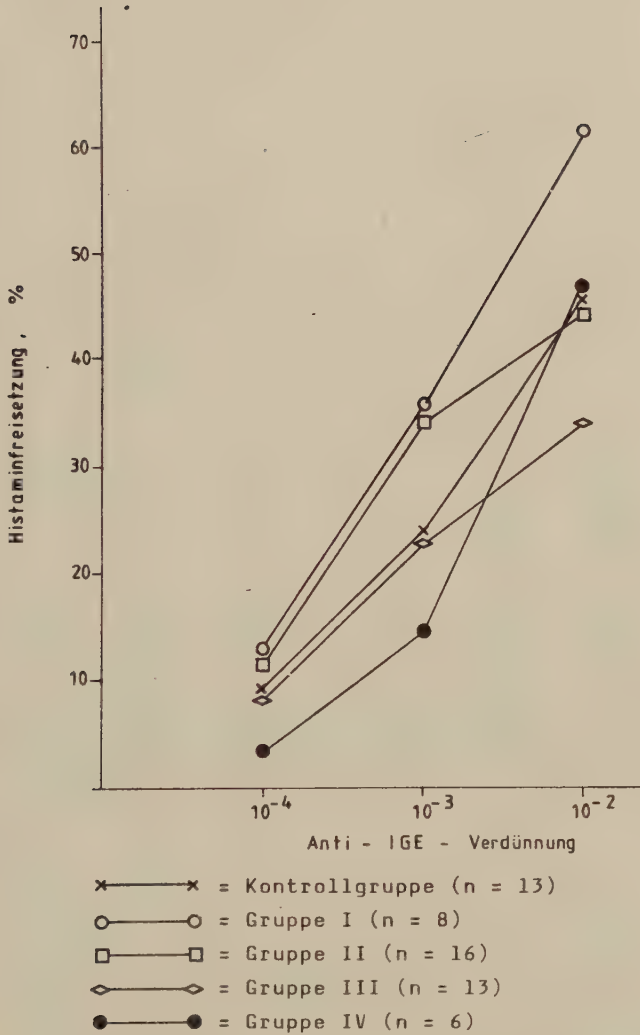


Abb. 12: Histaminfreisetzung nach Inkubation mit Anti-IgE und Vorinkubation mit Indomethacin (10^{-6} M) bei Patienten und Kontrollpersonen (Zahlenwerte s. Tab.23)

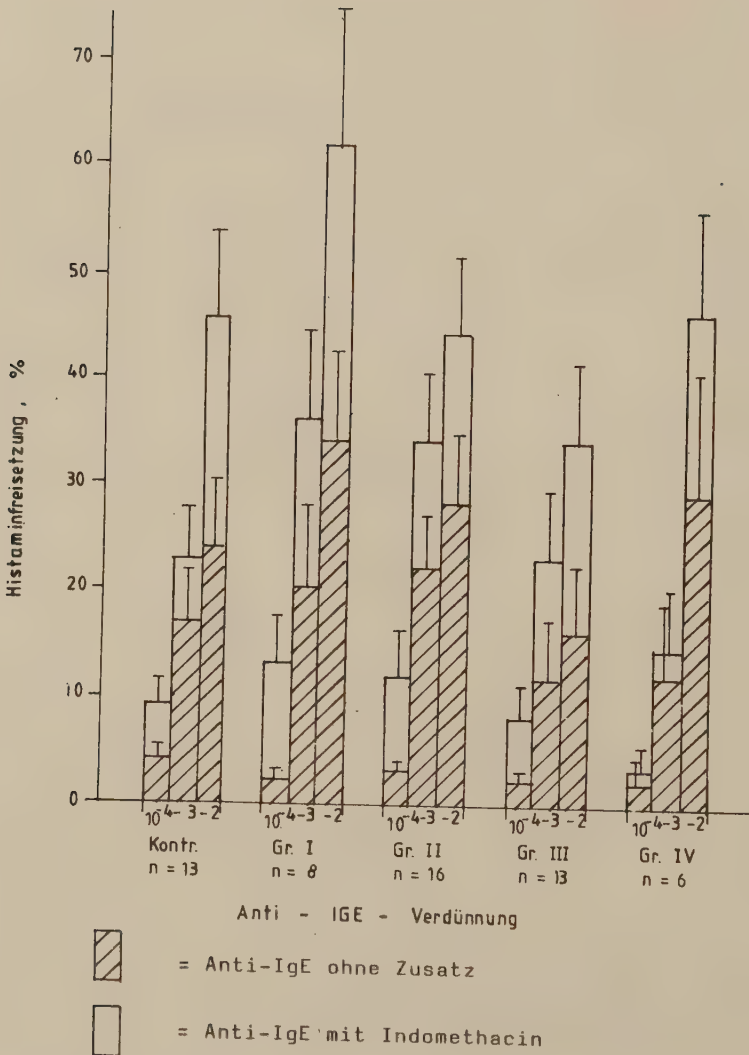


Abb. 13: Beeinflussung der Anti-IgE-induzierten Histaminfreisetzung durch Vorinkubation mit Indomethacin (10^{-6} M) bei Patienten und Kontrollpersonen (Zahlenwerte s. Tab. 23)

4.4 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT CA-IONOPHOR BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Die Histaminwerte nach Inkubation mit Ca-Ionophor lagen bei allen Gruppen, wie auch bei den Kontrollpersonen, unter den Anti-IgE-vermittelten Werten. Im Vergleich zu den Normalpersonen haben die Patientengruppen nach Stimulation mit Ca-Ionophor in der Verdünnung 10^{-3} zwischen 6% - 10% weniger Histamin freigesetzt (nicht signifikant). Auch in höheren Verdünnungen blieben die Histaminwerte der Patientengruppen nach Ca-Ionophor unter den Durchschnittswerten der Kontrollpersonen.

PGE_2 zeigte keine hemmenden Effekte auf die Ca-Ionophor-induzierte Histaminfreisetzung. In der niedrigsten Verdünnung war in allen vier Gruppen sogar eine geringe Steigerung zu beobachten (wie auch bei den Normalpersonen).

Ähnlich wie bei den Kontrollpersonen die Histaminfreisetzung durch Indomethacin nochmals gesteigert wurde, war dieser Trend auch bei Patienten zu verfolgen. Die nachfolgend beschriebenen Histaminwerte betreffen den "Mediatorrelease" nach Inkubation mit Ca-Ionophor 10^{-3} + Indomethacin (10^{-6}M), da hier die Unterschiede am deutlichsten herausgestellt werden konnten:

In Gr. I, III und IV wurde durch Indomethacineinwirkung ein Histaminmittelwert von $\bar{x} = 25,2\% \pm 22,7\%$ (Gr.I), $\bar{x} = 26,2\% \pm 25,2\%$ (Gr.III) und $\bar{x} = 20,0\% \pm 18,3\%$ (Gr.IV) erreicht, d.h. eine Steigerung um 12% bei den Gruppen I und III und um 6% bei der Gruppe IV im Vergleich zur Ca-Ionophor-Inkubation o. Zusatz. Bei Betrachtung der Resultate nach höheren Verdünnungen von Ca-Ionophor waren die Steigerungen nach Vorinkubation mit Indomethacin besonders auffällig (teilweise signifikant, s. Tab.25)

So konnte z.B. in Gruppe I der Mittelwert nach Ca-Ionophor 10^{-5} o.Z mit $\bar{x} = 0,5 \% \pm 1,0 \%$ auf $\bar{x} = 17,0 \% \pm 17,6 \%$ gesteigert werden durch Zufügen von Indomethacin. Auch Gruppe II zeigte bei den höheren Verdünnungen von Ca-Ionophor diese Tendenz zu höheren Histaminmittelwerten nach Indomethacin-Vorinkubation, verglichen mit den Mediatorfreisetzungen nach Ca-Ionophor o.Z. .

Tabelle 25: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Patientengruppen nach Ca-Ionophor - Stimulation unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

Ca-Iono-Verdünnung	Kontr. (n = 13)	Gr. I (n = 8)	Gr. II (n = 16)	Gr. III (n = 13)	Gr. IV (n = 6)
10^{-3} o.Z.	22,8 ± 25,3	12,7 ± 18,5	16,5 ± 16,9	14,2 ± 16,3	14,1 ± 15,3
10^{-4} o.Z.	4,5 ± 3,8	1,0 ± 1,7	2,5 ± 3,1	2,3 ± 4,8	4,7 ± 7,0
10^{-5} o.Z.	2,8 ± 4,2	0,5 ± 1,0	1,5 ± 13,0	2,4 ± 5,8	2,4 ± 3,0
10^{-3} + PGE_2	25,1 ± 28,3	15,6 ± 25,1	19,8 ± 22,7	16,1 ± 18,1	20,5 ± 17,5
10^{-4} + PGE_2	4,3 ± 7,1	1,5 ± 2,6	2,0 ± 2,3	1,0 ± 2,1	4,5 ± 6,3
10^{-5} + PGE_2	3,1 ± 6,3	1,2 ± 1,4	3,2 ± 5,2	2,5 ± 5,3	2,5 ± 1,9
10^{-3} + Indo	28,7 ± 28,3	25,2 ± 22,7	15,0 ± 19,7	26,3 ± 25,1	20,0 ± 18,3
10^{-4} + Indo	19,6 ± 23,4	10,2 ± 8,2	8,6 ± 18,2	7,2 ± 10,1	6,2 ± 8,8
10^{-5} + Indo	12,3 ± 13,4	17,0 ± 17,6	8,4 ± 17,8	7,9 ± 14,6	5,2 ± 7,7
Signifikanz o.Z./Indo (10^{-5})	$\leq p=0,05$	$\leq p=0,01$	n.s.	n.s.	n.s.

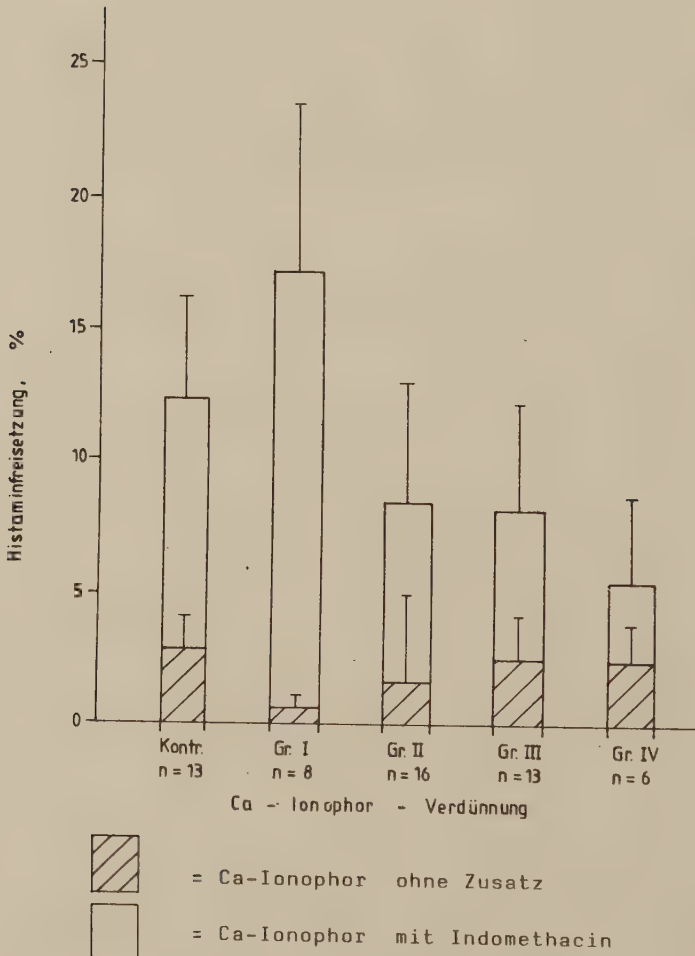


Abb. 14: Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Ca-Ionophor 10^{-5} o.Z. und mit Indomethacin (10^{-6} M) bei Patienten und Kontrollpersonen

4.5 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT C5a BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Nach Stimulation der Zellsuspensionen von den vier Patientengruppen mit unverdünntem C5a wurden Histaminfreisetzungen zwischen $\bar{x} = 29,1 \% \pm 20,9 \%$ (Gr.II) und $\bar{x} = 43,8 \% \pm 17,9 \%$ (Gr.IV) erreicht, die aber alle noch unter dem Mittelwert der Kontrollgruppe mit $\bar{x} = 44,3 \% \pm 28,6 \%$ lagen (s. Tab.26). Die Mediatorsekretion nahm entsprechend der angewandten C5a-Verdünnungen ab.

Nach Vorinkubation mit PGE_2 ließ sich ein unterschiedliches Freisetzungsverhalten der vier Patientengruppen erkennen: In Gr.I und IV konnten die Histaminwerte noch leicht gesenkt werden (s. auch Normalpersonen), während PGE_2 die Histaminfreisetzung in Gr.II und sogar signifikant in Gr.III ($p \leq 0,05$) steigerte von $\bar{x} = 35,2 \% \pm 27,5 \%$ auf $\bar{x} = 57,6 \% \pm 35,3 \%$.

Die bei Kontrollpersonen beobachtete auffällige Hemmung der C5a-induzierten Histaminliberation nach Vorinkubation mit Indomethacin konnte auch in allen vier Patientengruppen bestätigt werden. Die durch Indomethacin stark verminderten Histaminfreisetzungen lagen (besonders deutlich nach unverdünntem C5a + Indomethacin) immer unter den PGE_2 -stimulierten Werten und sogar mit Ausnahme von Gr.I überall signifikant unter den C5a - Werten o.Z. (bei Gr.II, Gr.III und den Kontrollpersonen mit $p \leq 0,05$; bei Gr.IV mit $p \leq 0,005$). Dieser Trend wurde auch nach Anwendung von verdünntem C5a + Indomethacin beobachtet, wenn sich die Histaminwerte auch prozentual nicht so auffällig unterschieden.

Tabelle 26: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Patientengruppen nach C5a-Stimulation unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

C5a-Verdünnung	Kontr. (n = 13)	Gr. I (n = 8)	Gr. II (n = 16)	Gr. III (n = 13)	Gr. IV (n = 6)
10^0 o. Z.	44,3 ± 28,6	32,2 ± 25,1	29,1 ± 20,9	35,2 ± 27,5	43,8 ± 17,9
10^{-1} o. Z.	12,0 ± 10,6	17,0 ± 15,2	6,6 ± 6,8	10,1 ± 11,8	16,9 ± 14,3
10^{-2} o. Z.	5,0 ± 8,5	2,1 ± 8,9	1,3 ± 1,7	1,8 ± 4,2	3,9 ± 3,9
10^0 + PGE_2	40,3 ± 30,3	30,2 ± 26,0	32,2 ± 23,4	57,6 ± 35,3	37,3 ± 16,5
10^{-1} + PGE_2	11,8 ± 17,3	7,8 ± 5,9	9,1 ± 9,3	9,7 ± 8,8	8,6 ± 9,4
10^{-2} + PGE_2	5,7 ± 8,8	2,0 ± 2,2	2,5 ± 3,2	0,8 ± 1,4	1,7 ± 1,6
10^0 + Indo	27,8 ± 22,7	20,2 ± 18,9	17,7 ± 18,4	16,9 ± 13,1	13,9 ± 16,4
10^{-1} + Indo	10,1 ± 14,2	6,5 ± 5,4	5,5 ± 9,5	4,9 ± 8,0	0,0 ± 0,0
10^{-2} + Indo	7,4 ± 9,8	6,7 ± 9,9	7,0 ± 17,5	6,3 ± 10,2	0,7 ± 1,8
Signif. o. Z. / PGE_2	n.s.	n.s.	n.s.	$p \leq 0,05$	n.s.
Signif. o. Z. / Indo	$p \leq 0,05$	n.s.	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,05$	$p \leq 0,005$

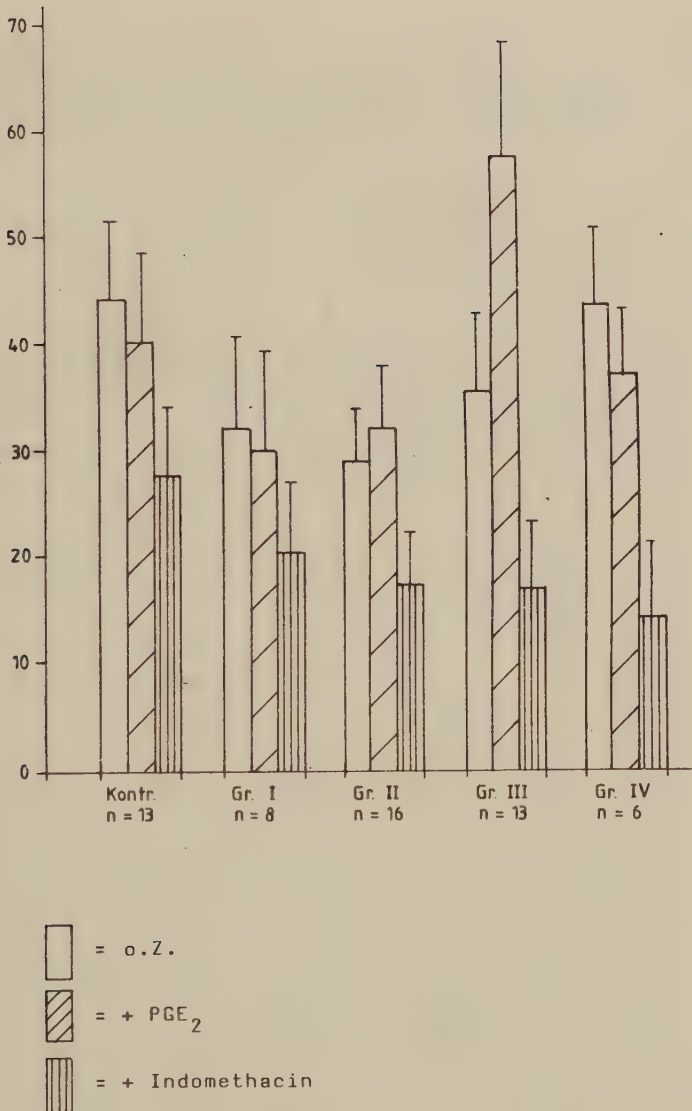


Abb. 15: Histaminfreisetzung nach C5a-Stimulation 10^0 unter
Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indomethacin (10^{-6} M)
bei Patient und Kontrollpersonen

Zusammenfassend kann man feststellen, daß in Gr.I und Gr.IV die höchsten Histaminfreisetzungen nach C5a-Stimulation o.Zusatz erreicht wurden (wie auch bei den Kontrollpersonen), während bei Gr.II und Gr.III die größte Histaminfreisetzung nach C5a + PGE₂ gemessen wurde (s. Kapitel C, 4.4, auch hier eine Steigerung der Histaminwerte nach PGE₂ im Vergleich zur ausschließlichen Stimulation mit den Testsubstanzen).

Gemeinsam war allen Patientengruppen die auffällige Verminderung des HR nach Inkubation mit C5a + Indomethacin, die sich trendmäßig schon bei den Kontrollpersonen abzeichnete. Somit traten die kleinsten C5a-vermittelten Mediatorfreisetzungen in Kombination mit Indomethacin auf, welches ansonsten zusammen mit allen anderen getesteten Stimuli (Anti-IgE, Ca-Ionophor, PMA) genau das Gegenteil bewirkte, nämlich eine massive Steigerung der Histaminfreisetzung.

4.6 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH STIMULATION MIT PMA BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

PMA wurde an insgesamt 22 Patienten getestet, die sich allerdings sehr unterschiedlich auf die einzelnen Gruppen verteilten: Gr.III konnte mit 11 Patienten (Nr.30, 31,32,35,36,38,39,42,46,47,48) den größten Anteil der PMA-Inkubation stellen; je vier Patienten stammten aus Gr.I (Nr.34,40,44,55) und Gr.IV (Nr.24,33,41,49); aus Gr.II konnte sogar nur das Blut von drei Patienten mit respiratorischer Atopie (Nr.26,29,37) mit PMA untersucht werden.

Wie schon bei den Kontrollpersonen (s. Kapitel 3.6) konnte PMA allein auch bei den Patientengruppen praktisch keine Histaminfreisetzung bewirken. Bei allen PMA-Konzentrationen (10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml) blieben die Histaminmittelwerte unter 10% bis auf eine Ausnahme: PMA (10 ng/ml) konnte in Gr.I eine Histaminfreisetzung von $\bar{x} = 27,5\% \pm 48,3\%$ erzielen. Dazu muß man bemerken, daß PMA in Gr.I nur an vier Patienten getestet wurde und der hohe Wert durch eine einzige Patientin bedingt ist (Nr.34), die nach PMA (10 ng/ml) 100% Histamin freisetzte. Die Werte der anderen drei Patienten (Nr.40,44,55) lagen zwischen 1,2 % und 4,6 %. Die Patientin (Nr.34) gehörte zu den generellen "High-Releasern" und ist auch für die anderen auffällig hohen Histaminwerte der Gr.I (nach PMA + Anti-IgE und PMA + Ca-Ionophor) in diesen Versuchsansätzen verantwortlich zu machen (s.Kapitel 4.7).

Ebenso wie bei der Kontrollgruppe liegt auch bei Gr.II und Gr.III das Maximum des HR bei einer PMA-Konzentration von 0,3 ng/ml (auch nach zusätzlicher Vorinkubation mit Indomethacin bei den Gruppen I,III, und IV).

Diese Relation ist bei den einzelnen Patientengruppen nicht so ausgeprägt zu erkennen (wahrscheinlich bedingt durch die geringe Anzahl an Patienten je Gruppe bei der PMA-Testung), so daß dieses umgekehrt proportionale Verhältnis zwischen Histaminfreisetzung und PMA-Konzentration nicht sicher bestätigt werden kann.

PGE_2 bewirkt eine leichte Hemmung der Mediatorenfreisetzung nach Inkubation mit PMA (s. Abb.16), wobei alle Mittelwerte, gleichgültig nach welcher PMA-Konzentration, die 5%-Schwelle nicht erreichen.

Indomethacin konnte teilweise signifikante Steigerungen der Histaminfreisetzung bewirken im Vergleich zu PMAo.Z., allerdings erreichten die Durchschnittswerte nur maximal 20% (mit Ausnahme von Gr.I, aus bereits oben genannten Gründen).

Tabelle 27: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Patientengruppen nach PMA-Stimulation unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indomethacin (10^{-6}M)

PMA-Konzentrationen in ng/ml	Kontr. (n = 10)	Gr. I (n = 4)	Gr. II (n = 3)	Gr. III (n = 11)	Gr. IV (n = 4)
10 o.Z.	1,7 $\pm$ 1,9	27,5 $\pm$ 48,3	1,1 $\pm$ 2,0	2,9 $\pm$ 5,2	7,2 $\pm$ 9,6
3 o.Z.	3,5 $\pm$ 5,3	2,1 $\pm$ 1,6	2,4 $\pm$ 1,9	2,3 $\pm$ 6,4	1,4 $\pm$ 1,5
1 o.Z.	3,1 $\pm$ 3,7	7,7 $\pm$ 8,3	1,5 $\pm$ 1,9	2,9 $\pm$ 6,5	2,52 $\pm$ 3,1
0,3 o.Z.	4,6 $\pm$ 6,3	2,3 $\pm$ 3,3	3,2 $\pm$ 2,8	3,7 $\pm$ 5,3	1,26 $\pm$ 1,7
10 + PGE_2	4,1 $\pm$ 6,1	1,6 $\pm$ 1,5	0,0 $\pm$ 0,0	4,8 $\pm$ 7,4	2,2 $\pm$ 2,6
3 + PGE_2	2,8 $\pm$ 5,5	2,1 $\pm$ 2,5	0,0 $\pm$ 0,0	3,2 $\pm$ 6,0	2,5 $\pm$ 1,8
1 + PGE_2	3,7 $\pm$ 5,1	1,0 $\pm$ 1,2	0,7 $\pm$ 1,2	2,1 $\pm$ 3,7	2,3 $\pm$ 0,7
0,3 + PGE_2	3,2 $\pm$ 3,5	0,6 $\pm$ 1,2	2,4 $\pm$ 2,9	2,6 $\pm$ 5,6	3,9 $\pm$ 3,4
10 + Indo	14,2 $\pm$ 16,8	7,9 $\pm$ 8,8	18,0 $\pm$ 31,2	12,5 $\pm$ 16,2	6,4 $\pm$ 3,0
3 + Indo	17,6 $\pm$ 15,2	20,6 $\pm$ 11,9	18,0 $\pm$ 31,2	13,7 $\pm$ 16,3	6,1 $\pm$ 4,9
1 + Indo	21,2 $\pm$ 18,8	36,2 $\pm$ 40,7	2,3 $\pm$ 2,6	14,6 $\pm$ 14,7	14,1 $\pm$ 7,8
0,3 + Indo	27,1 $\pm$ 24,6	19,6 $\pm$ 13,0	3,4 $\pm$ 3,7	21,6 $\pm$ 21,7	14,6 $\pm$ 13,0
Signifikanz o.Z./Indo 0,3 ng/ml	p $\leq$ 0,01	p $\leq$ 0,05	n.s.	p $\leq$ 0,05	n.s.

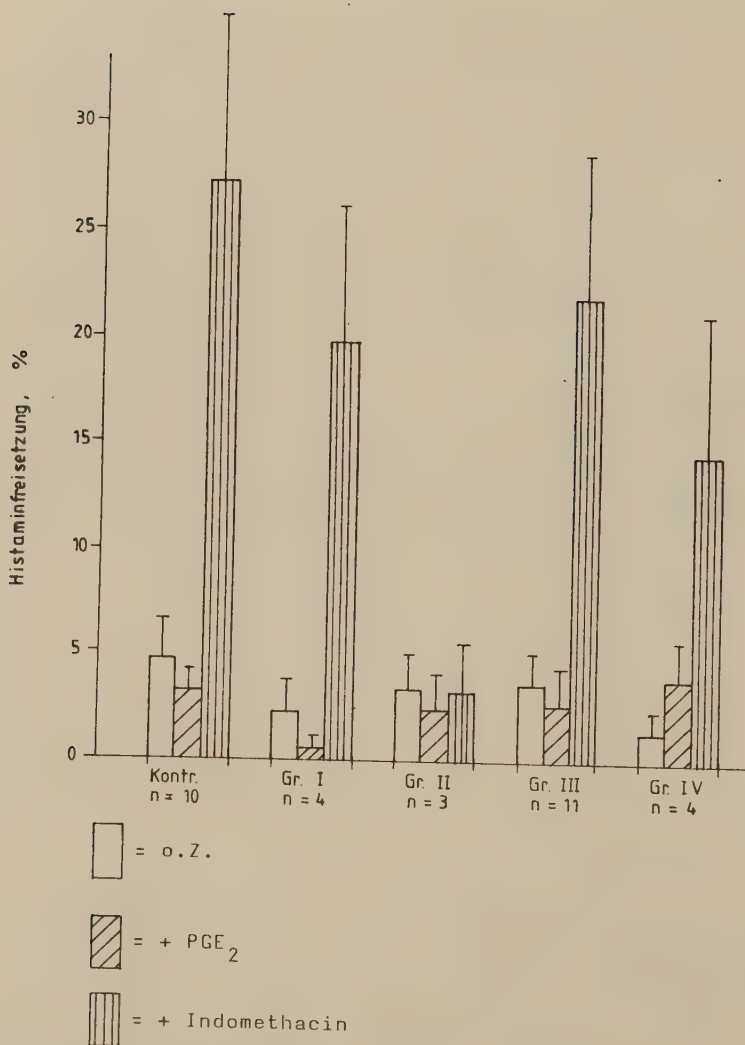


Abb. 16: Histaminfreisetzung nach PMA-Stimulation (0,3 ng/ml) unter Einfluß von PGE₂ (10⁻⁶M) und Indomethacin (10⁻⁶M) bei Patienten und Kontrollpersonen (Zahlenwerte s.Tab.27)

4.7 UNTERSUCHUNG DER HISTAMINFREISETZUNG NACH DOPPELSTIMULATION MIT PMA + ANTI-IGE BZW. PMA + CA-IONOPHOR BEI PATIENTEN MIT ATOPISCHEN ERKRANKUNGEN

Der gleiche Versuchsansatz wie schon bei den Kontrollpersonen wurde auch bei 22 Patienten angewandt (s. Kap.C, 3.7). Dabei wurden die basophilen Leukozyten gleichzeitig mit PMA 1 ng/ml und Anti-IgE 10^{-2} bzw. mit PMA 1 ng/ml und Ca-Ionophor 10^{-3} inkubiert.

Die PMA + Anti-IgE-Werte lagen bei Gr.I und Gr.III über den reinen Anti-IgE-stimulierten Mittelwerten (s. Tabelle 28), während sie bei Gr.II und Gr.IV um 7% bzw. 18% darunter lagen. Der Hemmeffekt von PGE_2 zeigte sich auch bei den doppelstimulierten Histaminliberationen nach PMA + Anti-IgE im Vergleich zur Doppelinkubation ohne PGE_2 (bei allen Patientengruppen). Wiederum bestätigte sich der Trend, daß PGE_2 in der Lage ist, Anti-IgE-vermittelte Reaktionen zu hemmen (s. Kap.C, 4.3). Die Durchschnittswerte der Gr.I nach Doppelinkubation (PMA + Anti-IgE), auch in Verbindung mit PGE_2 , blieben nur knapp unter der Signifikanzschwelle im Vergleich zu den entsprechenden Kontrollwerten (auch hier nur unter Vorbehalt zu bewerten, s. Kap. C, 4.6)

Indomethacin konnte, wie auch bereits nach Anti-IgE + Indomethacin, die doppelstimulierten Werte bei Kontrollpersonen und Patienten (außer Gr.I, wo nach Indomethacin die niedrigste Histaminfreisetzung nach Zweifachstimulation auftrat) nochmals steigern.

Für die Doppelstimulation mit PMA + Ca-Ionophor gelten im Prinzip auch die oben gemachten Ausführungen. Die zweifache Inkubation konnte im Vergleich zur Ca-Ionophor-Stimulation o. Zusatz höhere Histaminfreisetzung bewirken, in Gr.I mit $\bar{x} = 45,5 \% \pm 36,8 \%$ und Gr.IV mit $\bar{x} =$

48,2 % $\pm$ 24,6 % sogar signifikant höhere Werte als bei den Kontrollpersonen ($p \leq 0,05$).

Eine Verminderung der Histaminfreisetzung durch PGE_2 konnte auch nach Doppelstimulation mit PMA + Ca-Ionophor, ähnlich wie nach Ca-Ionophor o.Z., nicht eindeutig festgestellt werden (s. Kap.C, 4.4). Allerdings konnte auch Indomethacin keine einheitliche Erhöhung der Mediatorenfreisetzung bewirken. Nur in Gr.III und bei den Kontrollpersonen konnte eine deutlich höhere Histaminfreisetzung nach PMA + Ca-Ionophor + Indomethacin im Vergleich zu PMA + Ca-Ionophor registriert werden, während nach Indomethacin in den Gr.I und II die jeweils niedrigste Histaminfreisetzung zu beobachten war.

Die Histaminwerte nach Doppelinkubation in Gr.IV (allergisches Kontaktekzem) unterschieden sich deutlich von allen anderen Zellspendergruppen: Während die zweifach stimulierten Werte mit PMA + Anti-IgE generell höher lagen als die PMA + Ca-Ionophor -stimulierten Werte (s. Kap.C, 3.7), so fand sich in Gr.IV das umgekehrte Verhältnis: Die Inkubation mit PMA + Ca-Ionophor (auch in Verbindung mit PGE_2) erbrachte signifikant höhere Histaminfreisetzen als nach Doppelinkubation mit Anti-IgE ($p \leq 0,05$), ließ sich jedoch durch Indomethacin nicht weiter steigern (s. Tabelle 28).

Tabelle 28: Histaminfreisetzung $\bar{x}$ in % bei Patientengruppen nach Stimulation mit Anti-IgE 10^{-2} und Ca-Ionophor 10^{-3} o.Z. und mit PMA (1 ng/ml) unter Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indomethacin (10^{-6})

Substanzen	Kontr. (n = 10)	Gr.I (n = 4)	Gr.II (n = 3)	Gr.III (n = 11)	Gr.IV (n = 4)
Anti-IgE o.Z.	24,3 ± 23,2	33,9 ± 24,4	28,2 ± 26,0	16,3 ± 22,8	29,1 ± 23,5
Anti-IgE+PMA	32,3 ± 25,1	52,7 ± 38,6	21,0 ± 19,3	24,6 ± 18,1	11,5 ± 10,4
Anti-IgE+PMA +PGE ₂	23,7 ± 25,0	45,6 ± 34,6	19,2 ± 16,6	19,5 ± 17,1	10,3 ± 12,2
Anti-IgE+PMA +Indo	55,5 ± 35,4	24,4 ± 30,8	24,8 ± 15,4	43,5 ± 32,9	42,9 ± 22,1
Ca-Iono o.Z.	22,8 ± 25,3	12,7 ± 18,5	16,5 ± 16,9	14,2 ± 16,3	14,1 ± 15,3
Ca-Iono +PMA	22,0 ± 15,3	45,5 ± 36,8	22,4 ± 26,2	22,6 ± 20,2	48,2 ± 24,6
Ca-Iono +PMA +PGE ₂	21,0 ± 22,0	18,7 ± 12,7	18,5 ± 21,7	14,7 ± 18,2	43,0 ± 5,7
Ca-Iono +PMA +Indo	46,5 ± 32,3	17,3 ± 15,0	8,8 ± 8,3	34,6 ± 25,6	43,8 ± 20,4

—— = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

..... = Signifikanz ($p \leq 0,05$)

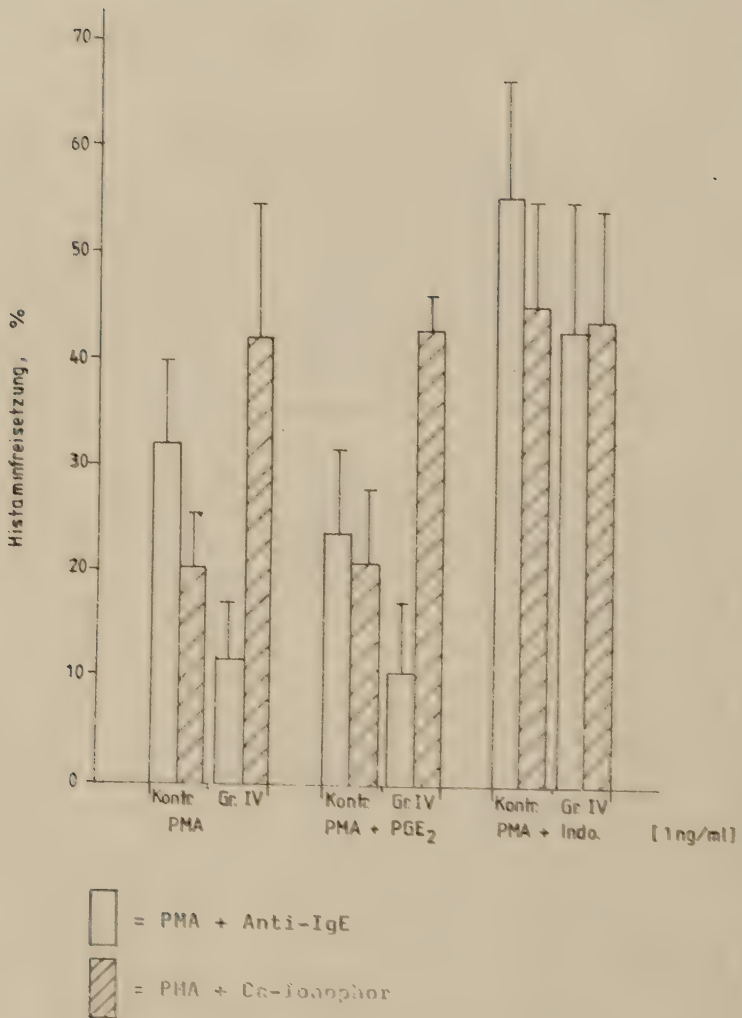


Abb. 17: Histaminfreisetzungen nach Doppelstimulation mit PMA + Anti-IgE 10^{-2} und PMA + Ca-Ionophor 10^{-8} unter Einfluß von PGE₂ (10^{-6} M) und Indo (10^{-6} M) bei Patienten der Gr. IV und Kontrollpersonen (Zahlenwerte s. Tab. 28)

Bemerkenswert war im Verhältnis von alleiniger Inkubation mit Anti-IgE oder Ca-Ionophor zur Doppelstimulation, daß "Non-Releaser" in der einfachen Stimulation nach Zusatz von PMA plötzlich Histamin freisetzten. So konnte bei der vorliegenden Untersuchung für die "Nonresponder" auf Ca-Ionophor festgestellt werden, daß diese nach Doppelstimulation mit PMA + Ca-Ionophor Histamin freisetzten (Nr.25, 47, 48, 55).

Beispielhaft soll die Histaminantwort eines Patienten der Gr.III (Nr.48, Bienengiftallergie) dargestellt werden, dessen Zellen weder durch Anti-IgE noch durch Ca-Ionophor zu einer nennenswerten Histaminfreisetzung zu stimulieren waren, aber in Verbindung mit PMA enorme Histaminmengen zu sezernieren vermochten.

Tabelle 29: Histaminwerte in % nach Anti-IgE und Ca-Ionophor o.Z. und in Verbindung mit PMA unter Einfluß von PGE_2 (10^{-6}M) und Indo (10^{-6}M) bei Patient Nr. 48

	o.Z.	+ PGE_2	+Indo
Anti-IgE- Verdünnung 10^{-2}	0,0	18,5	5,5
Anti-IgE- Verdünnung 10^{-2} + PMA 1 ng/ml	54,3	49,2	60,7
Ca-Iono- Verdünnung 10^{-3}	0,0	0,0	0,0
Ca-Iono- Verdünnung 10^{-3} + PMA 1 ng/ml	35,8	12,5	31,0

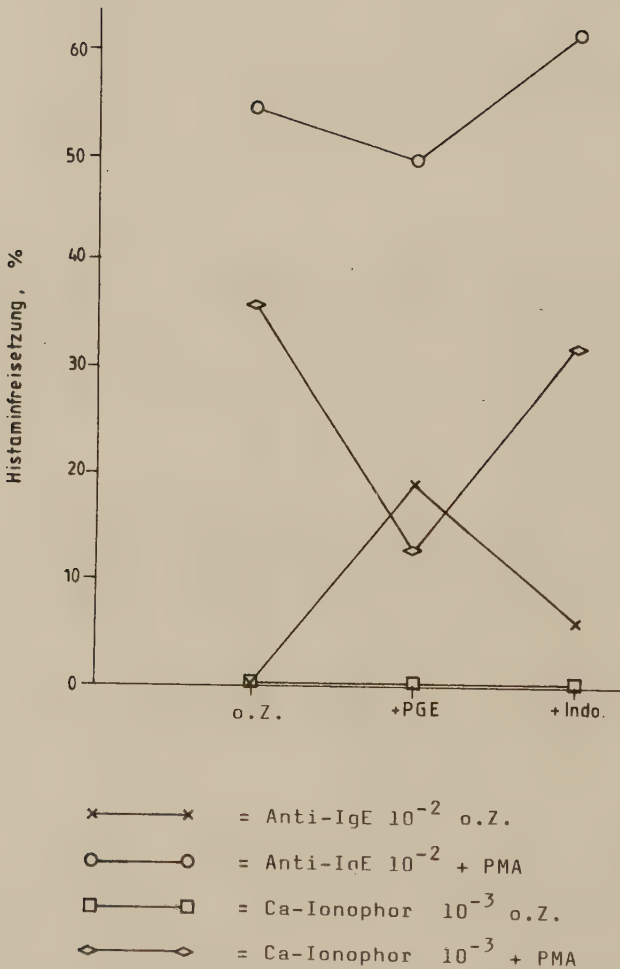


Abb. 18: Histaminfreisetzung nach Stimulation mit Anti-IgE 10⁻² und Ca-Ionophor 10⁻³ o.Z. und mit PMA (1 ng/ml) am Beispiel des Patienten Nr.48 (Gr.III)

D. DISKUSSION

1. GESAMTWERTUNG DER ERGEBNISSE

Durch Einflußnahme auf den Prostaglandinstoffwechsel sollten neue Erkenntnisse über die vielfältigen physiologischen und pathophysiologischen Wirkungsweisen der Mediatorsekretion aus basophilen Leukozyten gewonnen werden.

Gewaschene periphere Leukozyten wurden mit vier unterschiedlich wirkenden Stimuli inkubiert (Anti-IgE, Ca-Ionophor, C5a und PMA). Abgesehen von PMA führten alle Stimuli zu einer vermehrten Histaminfreisetzung im Vergleich zur Basalsekretion. Durch Vorinkubation mit exogen zugeführtem PGE_2 konnte zusammen mit Anti-IgE und PMA ein "zytoprotektiver Effekt" beobachtet werden. D.h., als Reaktion auf die PGE_2 -Inkubation nahm die Histaminfreisetzung ab, nicht aber in Verbindung mit Ca-Ionophor und C5a, wo sowohl bei Kontrollpersonen als auch bei Patienten keine Hemmung erreicht werden konnte.

Demgegenüber bewirkte eine Hemmung der Zyklooxygenase, dem Schlüsselenzym im Prostaglandinmetabolismus, mittels Indomethacin teilweise signifikante Steigerungen des gemessenen Histamingehalts im Überstand nach Stimulation mit Anti-IgE, Ca-Ionophor und PMA. Überraschend war eine Verminderung der Histaminfreisetzung nach Stimulation mit C5a durch Indomethacin. Dieses Phänomen konnte bei Patienten und Kontrollpersonen beobachtet werden.

Im folgenden sollen die Ergebnisse unter verschiedenen Aspekten diskutiert werden.

1.1 HISTAMINFREISETZUNG DURCH ANTI-IGE

Die Histaminwerte erreichten nach Anti-IgE-Inkubation in der verwendeten Verdünnung von 10^{-2} bei allen Gruppen und den Kontrollpersonen den jeweils höchsten Zahlenwert, auch in Verbindung mit PGE_2 und Indomethacin.

BORK und KÖNIG (21/124) beobachteten bei Versuchen mit Anti-IgE und Allergenlösungen in hochkonzentrierter Form einen inhibitorischen Effekt (d.h., nur wenig verdünnte Stimulantienlösungen bewirkten eine geringe Induktion der Histaminfreisetzung), so daß eine glockenförmige Dosis-Wirkungskurve entstand mit maximalem HR bei einer Anti-IgE-Verdünnung von 10^{-3} . Diese Ergebnisse wurden von GILLESPIE und LICHTENSTEIN (63) bestätigt, die bei hohen Antigenkonzentrationen eine Hemmung der Mediatorfreisetzung feststellten, besonders bei suboptimaler Kalziumkonzentration.

Ein solches Freisetzungsmuster entspricht demjenigen, wie es erstmals von ISHIZAKA et al. (95) 1969 und später von NORMAN et al. (140) sowie von CONROY et al. (30) erhalten wurde. Dieser typische Sekretionsverlauf könnte nach Meinung von BORK und KÖNIG (21) mit der Anzahl der IgE-Moleküle auf den basophilen Leukozyten zusammenhängen. Eventuell ist die Verweildauer des Antigens bei hochkonzentrierter Antigenlösung an den entsprechenden Bindungsstellen des zellgebundenen IgE-Moleküls zu kurz, um das Signal für die Mediatorfreisetzung wirksam werden zu lassen.

ISHIZAKA et al. (98) glauben, daß die Anzahl der zellgebundenen IgE-Moleküle (zwischen 10.000 und 40.000 pro basophilem Leukozyten sowohl bei Atopikern als auch nicht atopischen Probanden) die Anti-IgE-Konzentration bestimmt, die für die Histaminfreisetzung verantwortlich ist. Weisen die basophilen Leukozyten viele IgE-Moleküle auf, so ist

die optimale Anti-IgE-Konzentration für einen maximalen HR gering, konnten auf einer Zelle nur wenige IgE-Moleküle nachgewiesen werden, wurde mehr Anti-IgE benötigt. Die Autoren nehmen an, daß die Anzahl der zellgebundenen IgE-Antikörper die Sensitivität (= Ansprechbarkeit) der Zelle in Bezug auf ein Allergen bestimmt, der Umfang der Histaminfreisetzung allerdings von intrazellulären Enzymsystemen kontrolliert wird.

PGE₂ konnte erwartungsgemäß den HR im Vergleich zur Anti-IgE-Inkubation ohne Zusatz senken (zytoprotektiver Effekt über Erhöhung des intrazellulären cAMP, 146) (s. Tab.24, S.59), während Indomethacin die Mediatorenfreisetzung steigern konnte (über Hemmung der Zyklooxygenase). Signifikante Erhöhungen wurden im Fall von Gruppe I (Patienten mit atopischem Ekzem) nach Inkubation mit Anti-IgE 10^{-2} und Indomethacin ($p \leq 0,05$) und Anti-IgE 10^{-3} und Indomethacin ($p \leq 0,01$) erreicht (s. Tab.24; S.59).

Dagegen konnten MARONE, SOBOTKA und LICHTENSTEIN (127) in einer vergleichenden Untersuchung zwischen Allergen*-Stimulation und Anti-IgE-Stimulation nur bei Indomethacin zusammen mit Allergen eine erhöhte Histaminfreisetzung beobachten, während der Zyklooxygenasehemmer auf die Anti-IgE-Inkubation keinen Einfluß hatte. Die Autoren stellten weiterhin fest, daß Allergen schneller und in einem wesentlich größeren Konzentrationsspielraum (d.h. gedrückte Gauß'sche Kurve) Histamin freisetzen kann. Auch sollen 5 HPETE und 5 HETE (zwei Lipxygenaseprodukte, s.Abb.21, S.118) den Allergen-vermittelten "Release" steigern, nicht aber die Histaminfreisetzung durch Anti-IgE. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die Brückenbildung auf der Zelloberfläche durch Allergen einen anderen Releaseprozess auslöst als Anti-IgE. Die Autoren haben die Hypothese aufgestellt, wonach diese Reaktion aufgrund der multivalenten Bindung des Allergens im Gegensatz zur

*(Allergen=Antigen E aus Pollen von Ragweed=Ambrosia elatior)

bivalenten Bindung des Anti-IgE entstanden sein könnte (unterschiedliche allosterische Konfiguration in der Fc-Portion des fixierten IgE-Moleküls) (87/99/127).

Unterstützt wird diese Hypothese durch Versuche von FEW-TRELL und METZGER (53), die herausfanden, daß ein IgE-Trimer ein wesentlich wirkungsvollerer Stimulus für die Histaminfreisetzung bei Rattenmastzelltumoren darstellt als ein IgE-Dimer. Allerdings konnten diese Beobachtungen nicht durch Experimente an normalen Rattenmastzellen bestätigt werden.

Bereits 1978 berichteten ISHIZAKA et al. (99), daß direkt mit dem Rezeptor reagierende $F(ab)_2$ -Fragmente Hautreaktionen bei normalen Ratten hervorrufen können, während $F(ab)$ -Monomere dazu nicht in der Lage waren. Es bedarf also mindestens eines Dimers, um Histamin aus den basophilen Leukozyten freizusetzen.

In einer Veröffentlichung von 1980 beschreiben RING, ALLEN, MATHISON und SPIEGELBERG einen signifikant verminderten HR bei Patienten mit respiratorischen Atopien nach Anti-IgE-Stimulation im Vergleich zu nicht-atopischen Probanden (160). Bereits 1976 haben KERN und LICHTENSTEIN bei Patienten mit chronischer Urtikaria eine unvollständige Histaminfreisetzung nach Anti-IgE-Stimulation beobachtet (107).

Entsprechende Ergebnisse konnten bei der vorliegenden Untersuchung an Patienten der Gruppe III (Bienen- oder Wespengiftallergie, Arznei- oder Nahrungsmittelallergie, Patienten mit chronischer Urtikaria) festgestellt werden, die nach reiner Stimulation mit Anti-IgE und nach Vorinkubation mit PGE_2 und Indomethacin niedrigerere Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe aufwiesen. Die Histamindurchschnittswerte der drei anderen Gruppen lagen höher als die der Kontrollgruppe. Besonders auffällig erhöht waren die

Histaminwerte der Gruppe I (Patienten mit atopischem Ekzem); teilweise sogar signifikant erhöht gegenüber den anderen Gruppen und der Kontrollgruppe nach Stimulation mit Anti-IgE (s. Abb.12, S.61), die nach den anderen Zellreizen (Ca-Ionophor , C5a, PMA) nicht beobachtet werden konnten.

Daß Patienten mit atopischem Ekzem auch erhöhte Histaminspiegel im Plasma und in der Haut aufweisen, ist bereits seit längerer Zeit bekannt (104/159/165). Aus den vorliegenden Resultaten könnte man schließen, daß die basophilen Leukozyten von Patienten mit atopischem Ekzem besonders sensibel auf Trigger der IgE-Reaktion reagieren, d.h. in diesem Fall auf Anti-IgE eine erhöhte "Releasability" aufweisen.

1.2 HISTAMINFREISETZUNG DURCH CA-IONOPHOR

Ionophore sind Substanzen, die den Ionentransport von einem wässrigen Medium in ein anderes durch eine natürliche oder künstliche Lipidmembran erleichtern (106/114). FOREMAN und MONGAR (57) zeigten als erste, daß eine Sekretion aus den Mastzellen einsetzt, wenn man sie einer entsprechenden Konzentration von extrazellulärem Kalzium zusammen mit Ca-Ionophore A 23187 aussetzt.

Ca-Ionophor A 23187 wurde von vielen Laboratorien experimentell untersucht (52/121/117). Man fand u.a. heraus, daß Inhibitoren der oxydativen Phosphorylierung den Ionophor-induzierten "Release" vollständig hemmen können; d.h., es wird Energie benötigt (38/56).

Die Wirkung des Ca-Ionophor wurde in vielen Untersuchungen in Bezug auf Histamin mit der eines Antigens verglichen (58/106/121). Inzwischen ist erwiesen, daß Ca-Ionophor nur den zweiten Schritt (also antigenunabhängig und kalziumabhängig) der IgE-vermittelten Mediatorfreisetzung induziert und somit von der vorübergehenden Permeabilitätserhöhung der Plasmamembran, wie sie bei Antigenstimulierung auftritt, unabhängig ist (37/57/121/186).

Legt man diesen Sekretionsprozess zugrunde, so könnte man sich die in der vorliegenden Untersuchung fehlende Hemmung der Ca-Ionophor-Wirkung durch PGE_2 erklären. Die Wirkung des Ca-Ionophor scheint von dem intrazellulären cAMP unabhängig zu sein, sowohl bei Rattenmastzellen (58) als auch bei humanen basophilen Leukozyten (121). PGE_2 erhöht das cAMP und senkt somit die Histaminfreisetzung, allerdings wirken diese cAMP-aktiven Substanzen (wie z.B. Isoproterenol, Choleratoxin) nur auf den ersten Schritt des Antigen-vermittelten HR (also antigenabhängig und kalziumunabhängig), den man bei dem durch Ca-Ionophor-induzierten HR nicht nachvollziehen kann.

In einem weiteren Versuch wurde der zweite Schritt mit Kolchizin und 2-Deoxyglukose gehemmt, wobei das Ergebnis bei der Antigen-vermittelten als auch Ca-Ionophor -vermittelten Histaminfreisetzung quantitativ und auch qualitativ gleich vermindert waren (121). LICHTENSTEIN und seine Mitarbeiter schließen daraus, daß der "Releaseprozess" durch Ca-Ionophor A 23187 identisch ist mit dem terminalen Schritt der Allergen-induzierten Histaminfreisetzung (121, s. Abb. 19, S.88).

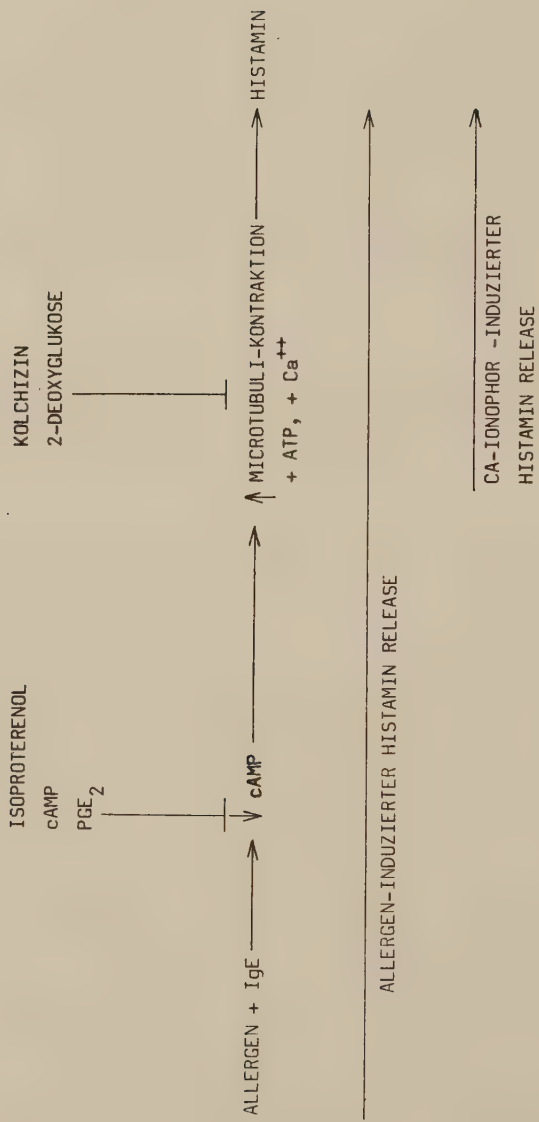


Abb. 19: Schema zum Antigen- und Ca-Ionophor -induzierten Histamin Release (121)

In der Literatur wird auch eine erhöhte spontane Histaminfreisetzung nach Prostaglandinvorinkubation beschrieben, allerdings nur bei einer PGE_2 -Konzentration von 10^{-8}M (203). Die hier vorliegenden Ergebnisse wurden mit PGE_2 10^{-6}M erzielt, dabei fand sich nur eine geringe Steigerung der Histaminwerte (nicht signifikant), die bei allen vier Patientengruppen und der Kontrollgruppe nach Stimulation mit Ca-Ionophor 10^{-3} und PGE_2 10^{-6}M beobachtet wurde.

Die Vorinkubation mit Indomethacin zusammen mit Ca-Ionophor konnte die Histaminfreisetzung bei der Kontrollgruppe und den Gruppen I, II, IV nochmals gering steigern, während die Patienten der Gruppe II (Patienten mit respiratorischer Atopie) einen Mittelwert unter dem nach Stimulation ohne Zusatz aufwiesen.

LEWIS und WHITTLE (118) haben eine Hemmung des Ca-Ionophor-induzierten HR durch Indomethacin bei Rattenmastzellen beobachtet. Sie konnten damit die Ergebnisse von TAYLOR, FRANCIS und SHELDON (204) bestätigen, die von einer deutlichen Abnahme der "Degranulation" bei Rattenmastzellen nach Indomethacin und Ca-Ionophor-Inkubation berichten.

Bereits 1973 konnte WALKER (219) dieses Phänomen an menschlichem Lungengewebe in-vitro testen. Da in der vorliegenden Untersuchung eine Hemmung durch das Zusammenspiel von Indomethacin und Ca-Ionophor nur bei Patienten mit respiratorischer Atopie (Gruppe II) beobachtet werden konnte (nicht signifikant), könnte man annehmen, daß das Lungengewebe besonders sensibel auf die Kombination dieser beiden Stoffe reagiert. Klinisch läßt sich die Asthmasymptomatik bei allergischem Asthma bronchiale nicht durch Prostaglandinsynthesehemmer wie Indomethacin beeinflussen (76).

Eine Erhöhung der Kalziumkonzentration im Inkubationsmedium konnte bei den Experimenten von LEWIS und WHITTLE (118) die Hemmung des HR durch Indomethacin wieder rückgängig machen. Die Autoren schließen daraus, daß Indomethacin die Hemmung des Ca-Ionophor -induzierten "Release" im Ca^{++} -abhängigen Teil des Freisetzungsprozesses bewirkt: Entweder indem es den Kalziumtransport in die Zelle behindert oder die Kalziummobilisation oder Utilisation in der Zelle selbst.

Untersuchungen mit Kalzium haben inzwischen zwei wahrscheinlich wichtige Wirkungsweisen aufgezeigt (114):

- 1.) Es besteht ein direkter Kalziumeffekt auf die Phospholipide der Zellmembran
- 2.) Es existiert ein unter Kalziumeinfluß stehender kontraktiler Zellapparat

Da ATP und freie Eiweiß-Sulfhydrylgruppen benötigt werden, messen die meisten Autoren eher der zweiten Hypothese größere Bedeutung zu (12/106/114).

1.3 HISTAMINFREISETZUNG DURCH C5a

Durch Aktivierung des Komplementsystems werden die Faktoren C3 und C5 gespalten (73/190). Die kleineren Spaltprodukte C3a und C5a werden auch als Anaphylatoxine bezeichnet und besitzen vielfältige proinflammatorische Effekte (93/167/217). U.a. kann bei neutrophilen Granulozyten eine lysosomale Enzymfreisetzung ohne Phagozytose reiz bewirkt werden (181).

GOLDSTEIN et al. (65/66) konnten zeigen, daß die Zellen dabei nicht zerstört werden: Es ließ sich keine LDH-Aktivität als Parameter der zellulären Lyse in den Versuchsanordnungen messen. Nicht sicher dagegen ist, ob C5a mit einem oder mit mehreren Oberflächenrezeptoren reagiert, da es die unterschiedlichsten Wirkungen auf die Zellen ausüben kann (86/167/224): Freisetzung von lysosomalen Enzymen und H_2O_2 , Chemotaxisreiz, Erhöhung des Glukosemetabolismus, Freisetzung von Histamin sowie Sekretion von Prostaglandinen.

Der letztgenannte Punkt wird durch Untersuchungen von RUTHERFORD und SCHENKEIN (168) bestätigt, die durch Inkubation von humanen mononukleären Phagozyten mit den C3-Fragmenten, C3b und C3bi, ebenfalls eine Prostaglandinsekretion erreichten. Dies würde bedeuten, daß über eine Aktivierung des Komplementsystems, sowohl auf dem klassischen als auch alternativen Weg (106/216) der Arachidonsäuremetabolismus in Gang gesetzt wird, an dessen Ende eine messbare Prostaglandinsekretion (meistens PGE_2) nachweisbar wird.

Im menschlichen Serum existiert ein Inaktivator des C5a, die Carboxypeptidase B, die durch Zugabe von EACA (Epsilon-Aminokapronsäure) gehemmt werden kann (73/92/209).

Die Karboxypeptidase B kann Arginin, eine wichtige Aminosäure am C-terminalen Ende des Peptids, abspalten und so zu seiner Inaktivierung führen (16/23/88).

TILL UND WARD (207) haben einen "chemotactic factor inactivator" entdeckt, der nicht mit dem Anaphylatoxininaktivator (AI) Karboxypeptidase B identisch ist (Unterschiede in der chemischen und physikalischen Beschaffenheit, Inhibitoren des AI können den "chemotactic factor inactivator" nicht hemmen). Die Autoren haben zwei verschiedene "chemotactic factor inactivators" entdeckt: ein 7S-beta-Globulin, das selektiv die Chemotaxis des C3-Fragments hemmen kann, und ein 4S-alpha-Globulin, das selektiv die Chemotaxis des C5-Fragments hemmt.

Es bestehen jedoch Unterschiede zwischen den verschiedenen Spezies, sodaß der "Inhibitor" Karboxypeptidase B nicht in allen Fällen wirksam wird (88). C3a und C5a können beide Histamin aus Meerschweinchenlunge mobilisieren, die Kapillarpermeabilität erhöhen, chemotaktisch auf Leukozyten wirken, Hautrötungen nach intradermalen Injektionen hervorrufen; allerdings ist nur C3a in der Lage, Histamin aus Rattenmastzellen freizusetzen, während C5a bei diesem Versuch wirkungslos bleibt (88). Aus Rattenserum gewonnenes Anaphylatoxin kann aus Rattenlunge Histamin freisetzen, nicht aber aus Rattenmastzellen (209).

VALLOTA und MÜLLER-EBERHARD (209) schätzen, daß C5a ungefähr 1000x aktiver ist als C3a bei intradermaler Applikation. Obwohl also wahrscheinlich beide Peptide C5a und C3a im Serum vorhanden sind, ist es nach Meinung der Autoren sehr unwahrscheinlich, daß C3a einen großen Einfluß auf die Histaminfreisetzung ausübt.

Weitere Untersuchungen zeigen, daß der C5a-Effekt bei Geweben ausgeprägter ist als bei isolierten Rattenmastzellen (71/176/214). Die Autoren diskutieren eine mögliche Beteiligung eines zusätzlichen Gewebefaktors beim C5a-induzierten HR.

Eine weitere Erklärung dieses Phänomens könnte in der Interpretation der Ergebnisse von RING et al. in einem Experiment mit Kontrastmittel liegen (156). Die Untersucher haben am Rattenomentummodell gezeigt, daß auch Kontrastmittel, die bekanntlich anaphylaktoide Reaktionen auslösen können, über eine Aktivierung des Komplementsystems (also Bildung der Anaphylatoxine C3a und C5a) einen HR bewirken. In einem weiteren Versuch konnte an menschlichen serum-freien Leukozytensuspensionen eine direkte Histaminfreisetzung durch Kontrastmittel beobachtet werden. Die Untersucher denken hier an die theoretische Möglichkeit einer Aktivierung von zellgebundenen Komplementfragmenten durch Kontrastmittel, die zu lokalen Anaphylatoxinaktivitäten führen könnte (155).

Forschungsergebnisse weisen daraufhin, daß Stoffwechselinhibitoren wie 2,4-Dinitrophenol, Antimycin A oder Kaliumzyanid, die das intrazelluläre ATP erniedrigen, den Komplement-vermittelten, zytolytischen HR von Rattenmastzellen hemmen können (109). Es scheint, daß diese Stoffwechselinhibitoren die Plasmamembran über Zytolyse durch das Komplement beschädigen, während die perigranuläre Membran unangetastet bleibt. Somit kann kein Histamin freigesetzt werden. Deshalb nahm man an, daß ATP an der Destruktion der perigranulären Membranen beteiligt gewesen sein könnte (109). Verschiedene Autoren bestätigen diese Hypothesen. Sie fanden heraus, daß das intrazelluläre ATP zwischen 25% - 30% abnimmt während des "Releaseprozesses" (36/103/148).

Zwei Forschergruppen haben sich mit dem Zusammenhang von C5a und D_2O beschäftigt. GILLESPIE und LICHTENSTEIN (61/62) stellten fest, daß D_2O als Stabilisator des Mikrotubuli-systems fungiert und schrieben ihm die Rolle eines selektiven Gegenspielers von cAMP zu. Bei den humanen basophilen Leukozyten scheinen hohe cAMP-Konzentrationen die Histaminfreisetzung zu hemmen, während D_2O sie erhöht. HOOK und SIRAGANIAN (89) konnten diese Ergebnisse nur zum Teil bestätigen: zwar konnten Substanzen, die das cAMP erhöhen, den C5a-induzierten HR hemmen, allerdings hatte D_2O keinen oder einen leicht inhibitorischen Effekt auf die Mediator-freisetzung.

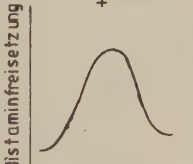
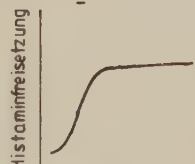
Der Einfluß divalenter Kationen wie Kalzium auf die Komplement-vermittelte Enzymsekretion von Leukozyten wurde von GOLDSTEIN, HOFFSTEIN und WEISSMANN untersucht (67). Die Autoren berichten, daß Enzyme wie die beta-Glukuronidase und Lysozym von Zytocalasin B-vorbehandelten Leukozyten freigesetzt werden nach Stimulation mit C5a ohne zugeführtes extrazelluläres Kalzium. Man nahm an, daß entweder eine Umverteilung des intrazellulären Kalzium stattgefunden hatte oder eine Translokation des membrangebundenen Kalzium ins Zytosol. In einem weiteren Versuch stellte sich heraus, daß Kalzium per se zeit- und konzentrationsabhängig ohne C5a eine Lysozymextrusion bewirken konnte.

Entweder übt Kalzium seinen Einfluß auf die Exozytose über die intrazellulären zyklischen Nukleotide aus oder über Interaktion mit den Strukturproteinen (s.S.90, Diskussion Ca-Ionophor). GOLDSTEIN et al. (67) haben in ihren Experimenten nur die Enzymfreisetzung gemessen und keine Aussagen über eventuelle Histaminwerterhöhungen gemacht.

Über die Kalziumabhängigkeit der Histaminfreisetzung nach C5a-Inkubation wurde in vielen Untersuchungen berichtet (73/88/89/106/149/178/180).

Kalzium wird sowohl beim C5a-induzierten "Release" als auch bei der Antigenstimulation benötigt. Zahlreiche Veröffentlichungen beschäftigen sich mit den Gemeinsamkeiten und Differenzen zwischen Komplement-bedingter Histaminfreisetzung und der IgE-vermittelten Mediatorsekretion (51/54/73/89/149/180/190): (s. Tabelle 30)

Tabelle 30: Unterschiede zwischen dem Anti-IgE- und C5a-induzierten Histamin Release (nach 51/54/190)

	ANTI-IgE	C5a
benötigt Ca^{++}	+	+
wird durch EDTA gehemmt	+	+
Hemmung durch Isoproterenol, Kolchizin, Choleratoxin, Theophyllin, 2-Deoxyglukose	+	+
keine Zytolyse	+	+
schneller "Release" (<1 min.)	-	+
D ₂ O erhöht "Release"	-	+
pH Optimum	7,4	7,0
T° Optimum	37°	25°-30°
zwei Phasen "Release"	+	-
Unterschiede im "Release" bei Atopikern und Normalpersonen	+	-
Sekretion von SRS-A	+	-
Dosis-Wirkungs-Kurven	 Hemmung durch hohe Konzentrationen	 Plateaubildung durch hohe Konzentrationen

SIRAGANIAN und HOOK (190) haben eine "Desensibilisierungsreaktion" nach C5a-induziertem "Release" festgestellt. Mit C5a oder Anti-IgE stimulierte basophile Leukozyten setzten bei einer zweiten Inkubation mit der gleichen Substanz kein Histamin mehr frei (74). Die Zellen sind also desensibilisiert für den Originalstimulus (z.B. C5a), reagieren aber auf Inkubation mit einem weiteren Stimulus (z.B. Anti-IgE) mit einer zusätzlichen Histaminsekretion (190). Die Autoren schließen daraus, daß sich auf der Zelloberfläche unterschiedliche Rezeptoren für Anti-IgE und C5a befinden und daß verschiedene intrazelluläre Kontrollmechanismen für die Histaminextrusion verantwortlich sind.

SIRAGANIAN und HOOK (190) beschäftigten sich weiterhin mit der Frage, ob C5a direkt die basophilen Leukozyten stimuliert oder ob der Komplementeinfluß über eine weitere Zelle vermittelt wird. Die Autoren vermuteten eine C5a-Wirkung auf die polynukleären Leukozyten, die wiederum über Freisetzung lysosomaler Enzyme die basophilen Leukozyten beeinflussen sollten. Es fand sich kein Anhalt für diese Hypothesen. Dagegen sprachen:

- 1.) Eine Histaminfreisetzung nach C5a konnte auch bei mit Ficoll-Hypaque gereinigten Zellen beobachtet werden (also nur sehr wenigen polynukleären Leukozyten).
- 2.) Die Enzymfreisetzung durch C5a war unabhängig von Kationen (67).
- 3.) Die C5a-vermittelte Histaminfreisetzung erfolgte so schnell, daß das Mitwirken einer weiteren Zelle unwahrscheinlich war.

Die auffälligsten Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung wurden nach Inkubation der basophilen Leukozyten mit C5a und Indomethacin erreicht. Während der Zykllooxygenasehemmer Indomethacin zusammen mit Anti-IgE, Ca-Ionophor und PMA zu einer erhöhten Histaminfreisetzung führte, kam es in Verbindung mit dem Anaphylatoxin C5a zu einer deutlichen, in allen Gruppen und bei den Kontrollpersonen (außer Gr.I) zu einer signifikanten Verminderung des HR im Vergleich zur C5a-Inkubation o. Z. (Gr.IV mit $p \leq 0,005$ und Gr.II, III und die Kontrollgruppe mit $p \leq 0,05$), (s. Tab.26, S.68). Entsprechende Ergebnisse wurden inzwischen auch von CONROY et al. (32) und FARNAM et al. (51) publiziert.

In der Arbeit von Fr. v.d.HELM (218) wurden bereits Untersuchungen vom Zusammenwirken von Indomethacin und Anti-IgE veröffentlicht. Die Zellstimulationen wurden nach dem gleichen Schema wie bei der vorliegenden Untersuchung durchgeführt; Im Zellüberstand konnte eine generelle Erhöhung der PGE_2 -Werte chromatographisch nachgewiesen werden (allerdings nur im Konzentrationsbereich von $10^{-9}M$). Die Autorin vermutet, daß Indomethacin als Radikalfänger die Hydroxylisierung der Arachidonsäure verhindert und somit eventuell die HPETE und HETE-Bildung über freie Radikale hemmt (s. Abb.21, S.118). Es konnte keine Aussage über die Zellherkunft des PGE_2 getroffen werden, da die Arachidonsäure und die sie metabolisierenden Enzyme sich in fast allen Zellmembranen befinden und nicht nur in den basophilen Leukozyten. Insgesamt macht PGE_2 ungefähr 70% des Gesamtprostaglandins aus, das aus den stimulierten Zellen freigesetzt wird (173).

C5a ist, wie bereits oben beschrieben, ebenfalls in der Lage, messbares PGE_2 freizusetzen (86/168). Zusammen mit den nach Indomethacininkubation nachweisbaren Prostaglandinen könnten die C5a-induzierten Prostaglandine vielleicht die stark verminderte Histaminsekretion nach C5a

und Indomethacin erklären. Dagegen spricht, daß C5a allein (trotz der oben postulierten möglichen PGE_2 -Freisetzung) als stärkster Stimulator fungiert und die höchsten Histaminwerte erreicht und somit keinerlei "zytoprotektiver Effekt" der eventuell gebildeten Prostaglandine nachweisbar ist.

Außerdem haben die unterschiedlichsten Versuche mit Indomethacin gezeigt, daß dieser Zyklusoxigenasehemmer die Prostaglandinbildung verhindert und zu einer Histaminfreisetzung führt (87/185/211/223). Zum Beispiel haben ANDERSON et al. (5) 1980 eine Arbeit veröffentlicht, wonach Indomethacin in der Konzentration von $2,8 \times 10^{-8} \text{ M}$ die Prostaglandinproduktion in der Trachealmuskulatur des Kaninchens hemmt. Ähnliche Versuchsergebnisse wurden auch von anderen berichtet (32/51/55/211).

Nur wenige Autoren kamen zu kontroversen Resultaten. STEFANOVICH (1974) stellte fest, daß "nicht - steroidale Antiphlogistika" (= NSAID's) wahrscheinlich über Interaktion mit den zyklischen Nukleotiden agieren, da sie in hohen Konzentrationen Enzyme wie z.B. die Phosphodiesterase hemmen. Das heißt, sie erhöhen das cAMP und senken den Release von SRS-A (= slow reacting substance of anaphylaxis) und Histamin. Eine ähnliche Verminderung der Histaminfreisetzung haben THOMAS und WHITTLE 1976 an peritonealen Rattenmastzellen beobachtet nach Anwendung von hoch konzentrierten NSAID's (205).

Da Indomethacin seine Wirkung an einem in der Zellmembran lokalisierten Enzym ausübt, könnte man auf ein Zusammenwirken mit C5a an den Rezeptoren der Zelloberfläche schließen. Möglicherweise ist Indomethacin in der Lage, im Rezeptorbereich von C5a Änderungen vorzunehmen, die dazu führen, daß

- 1.) C5a nicht mehr von seinem Rezeptor erkannt werden kann und somit keine Wirkung auf die entsprechende Zelle ausübt und

- 2.) die Zyklooxygenase zumindest in diesem Bereich nicht mehr gehemmt werden kann.

Leider wurden in der vorliegenden Untersuchung keine Prostaglandinmessungen im Zellüberstand nach Indomethacin und C5a-Inkubation vorgenommen, so daß man keine Aussage darüber machen kann, ob die mangelnde Histaminfreisetzung über eine Aktivierung des Arachidonsäuremetabolismus zustande gekommen ist. Auch wurde im Zellüberstand nur der Mediator Histamin gemessen und nicht die Produkte des Lipoxxygenasewegs, die inzwischen ebenfalls für die klinischen Erscheinungen des atopischen Symptomenkreises verantwortlich gemacht werden (130/169/170).

Weitere Untersuchungen über das Zusammenwirken von Indomethacin und dem Komplementsystem müssen klären, über welchen Mechanismus die Verminderung der Mediatorenfreisetzung verläuft und inwieweit diese Ergebnisse klinische Relevanz haben.

Die geschlechtsspezifische Untersuchung der Histaminmittelwerte nach C5a-Inkubation führte überraschenderweise zu deutlichen Unterschieden zwischen Männern und Frauen (teilweise signifikant, s. Tabelle 13, S.35). In 8 von 9 Fällen setzten die weiblichen Patienten nach Anaphylatoxinreiz mehr Histamin als die männlichen Patienten frei. Es konnte keine Literaturstelle gefunden werden, die sich mit diesem Problem beschäftigt hätte. Wie bereits erwähnt, haben HOOK und SIRAGANIAN (88) artenspezifische Unterschiede bei der Hemmung der Komplement-vermittelten Mediatorenfreisetzung festgestellt. Denkbar wäre, daß der natürliche C5a-Inaktivator, die Karboxypeptidase B, auch geschlechtsspezifisch reagiert und eventuell eine größere Wirkung auf die männlichen basophilen Leukozyten und Mastzellen ausübt (verminderte Ansprechbarkeit auf Epsilon-Aminokapronsäure?)

Auf eine generell erhöhte Reaktionsbereitschaft der weiblichen Zellspender nach Stimulation mit C5a (besonders in verdünnter Anwendung) kann man aus diesen Ergebnissen noch nicht schließen, da erstens sehr hohe Standardabweichungen gefunden wurden (bis zu $S = \pm 31,0 \%$) und sich zweitens bei niedriger konzentrierter C5a-Anwendung oft nur minimale Unterschiede zwischen den Mittelwerten bei Männern und Frauen fanden. Interessant erscheinen in diesem Zusammenhang Befunde, nach denen Androgene die Histaminfreisetzung in-vitro hemmen können (77).

1.4 HISTAMINFREISETZUNG DURCH PMA

Die tumorfördernden Phorbolester stimulieren viele verschiedene Zelltypen: Sie induzieren die Superoxidbildung (O_2^-) und Wasserstoffperoxidbildung (H_2O_2) durch Granulozyten und Monozyten (35/115/139), die Freisetzung von Lysozym aus neutrophilen Granulozyten (35/225), sie stimulieren die Thrombozytenaggregation und den "Serotonin Release" aus den Plättchen (226/228) und die Histaminfreisetzung aus basophilen Leukozyten (178).

Außerdem wirken sie synergistisch mit Zymosan bei der Freisetzung von beta-Glukuronidase aus neutrophilen Leukozyten, synergistisch mit bakteriellen Chemotaxisfaktoren in Bezug auf die neutrophilen Granulozyten, synergistisch mit Glukose bei der Insulinsekretion aus dem Pankreas, als auch synergistisch mit Ca-Ionophor A 23187 bei der Stimulation der Lymphozytenmitogenese (49/68/215/220).

Ihre Zusatzbezeichnung "Tumor-Promotoren" haben die Phorbolester deshalb erhalten, weil sie z.B. bei Mäuseepidermis, die mit einer unerschwelligen Karzinogendosis vorbehandelt worden war, Tumoren fördern oder unterhalten können, ohne selbst karzinogen zu sein (13/70).

1983 wurden in einer Veröffentlichung von MASTRO (131) die Kriterien für eine zweiphasige Karzinomentstehung in vivo aufgestellt: Der Initiator allein in unerschwelliger Dosierung oder der Promotor allein können nur wenige bzw. keine Tumoren hervorrufen. Die Anwendung des Initiators, gefolgt vom Promotor, dagegen löst in einer relativ kurzen Latenzperiode eine große Anzahl an Tumoren aus. Sowohl die Anwendungshäufigkeit als auch die Dosierung des Promotors bestimmen die Zeitspanne bis zur Entstehung des Karzinoms und die Anzahl der Tumoren.

Der Phorbol-ester PMA (Phorbol-12-Myristat-13-Azetat) als äußerst lipophile Substanz löst über Interaktion mit den Membranphospholipiden und Membranproteinen die Bildung freier Arachidonsäure aus und gibt somit das Startsignal für den Zyklus-oxygenase- und Lipoxygenasemetabolismus (d.h. Bildung von Prostaglandinen, Thromboxane, Leukotriene etc.) (60/116/136).

SMYTHIES (191) nahm an, daß die Phospholipase A der Rezeptor für die Phorbol-ester sein könnte, da z.B. BPB, ein Phospholipase A-Inhibitor, die PMA-induzierte Histaminfreisetzung hemmen konnte. Die Vermutung eines spezifischen Rezeptormoleküls wurde von DRIEDGER und BLUMBERG (41) erhärtet, die eine enge Korrelation zwischen HR und Rezeptorbindung beobachteten. Sicher ist, daß die Phospholipase durch PMA in vielen Zellen stimuliert werden kann (178). Es scheint auch wahrscheinlich, daß einige oder alle mediatorstimulierenden Eigenschaften von PMA das Ergebnis der Phospholipaseaktivierung sind.

Wenn diese Hypothese zutrifft, muß PMA das Enzym kalzium-unabhängig oder mit Hilfe von intrazellulärem Kalzium aktivieren. Denn die Autoren SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN (178) konnten nachweisen, daß PMA kein extrazelluläres Kalzium benötigt, sondern auch in Gegenwart von 1 mM EDTA Histamin freisetzt. Allerdings konnte die Mediatorsekretion durch Kalziumzufuhr erhöht werden.

Die neueste Theorie von MASTRO 1983 (131) besagt, daß es sich bei dem Rezeptor um die Proteinkinase C handelt, die phospholipidabhängig sein soll und durch Kalzium aktiviert werden kann. Nun befindet sich aber die Proteinkinase C hauptsächlich im Zytoplasma der Zelle, während der Rezeptor in der Membran lokalisiert ist. Diese Diskrepanz konnte durch Beobachtungen geklärt werden, wonach nach PMA-Stimulation weniger Proteinkinase C im Plasma vor-

handen ist, dafür aber mehr in der Membran. Wahrscheinlich findet durch die Aktivierung eine Translokation der Proteinkinase C vom Zytoplasma zur Membran hin statt (131).

Anhand der Lymphozyten, die sehr viel Proteinkinase C besitzen, wurde postuliert, daß das Lipomodulin der Lymphozyten das endogene Substrat der Proteinkinase C sei (131). Lipomodulin ist ein Hemmstoff der Phospholipase C. Die Phosphorylierung des Lipomodulin soll zu einer erhöhten Phospholipaseaktivität und somit zu einer vermehrten Freisetzung der Arachidonsäure führen.

GOODWIN und WEINBERG (70) haben versucht, am Beispiel des (20-³H)-phorbol-12,13-dibutyrate (= (³H)PDBu) die Zellbindungen der Phorbolester zu charakterisieren. Der biologisch aktive Ligand (³H)PDBu geht spezifische Bindungen mit menschlichen Lymphozyten, Monozyten, Granulozyten und Thrombozyten ein, nicht aber mit Erythrozyten (184). Das Fehlen einer spezifischen Bindung von (³H)PDBu an reife Erythrozyten scheint einzigartig unter allen Zelltypen zu sein. Denn Thrombozyten, die ebenfalls keinen Kern besitzen, weisen spezifische Rezeptoren für Phorbolester auf und kernhaltige Hühnererythrozyten wiederum haben keine spezifische Bindung mit (³H)PDBu. Auch BLUMBERG und seine Mitarbeiter konnten in verschiedenen Veröffentlichungen bestätigen, daß das Fehlen einer spezifischen Bindung von Phorbolestern und menschlichen Erythrozyten nicht an deren kernlosen Status liegt (42/138).

HOROWITZ und WEINSTEIN (90) haben 1981 von einem Faktor im Serum und den Gewebeproben berichtet, der die (³H)PDBu-Bindung verhindern kann. Bisher sind alle Versuche gescheitert, einen Liganden zu isolieren und zu charakterisieren, der ein kompetitives Verhalten zu (³H)PDBu um die Rezeptorbindung zeigt und vergleichbare Zelleffekte auslösen kann. Das mag zum Teil an den phorbolesterbindenden Proteinen liegen (184) als auch an den Hydrolasen (183).

PMA als stärkster Konkurrent kann die (^3H)PDBu - Rezeptorbindung verhindern und dadurch die entsprechenden Zellreaktionen hervorrufen (s. oben), während z.B. Phorbol und 4-alpha-Phorbol dazu nicht in der Lage waren (70).

Die vielen verschiedenen Wirkungen, die durch die Phorbol-esterliganden und den ubiquitär vorkommenden Rezeptor hervorgerufen werden können, legen die Vermutung nahe, daß ein "second messenger", eventuell ein endogener Ligand, für die physiologischen und pathologischen Funktionen der Zelle verantwortlich sein könnte (70). Die zyklischen Nukleotide, "second messengers" für viele Hormone, zeigen in einigen aber nicht in allen experimentellen Systemen Veränderungen mit PMA: Nach Meinung von SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN (178) läßt sich der PMA-Effekt nicht durch cAMP-Änderungen beeinflussen.

In einer Untersuchung von WHITE et al. (225) konnte PMA bei neutrophilen Granulozyten einen "Releasemechanismus" in Gang setzen. Somit war es interessant zu untersuchen, ob die Histaminfreisetzung der basophilen Leukozyten nicht auch ein indirekter Effekt der neutrophilen Degranulation war (s. Hypothese C5a, S.96). Diese Vermutung konnte nicht bestätigt werden, da sowohl gereinigte basophile Zellsuspensionen mit der Ficoll-Hypaque-Methode als auch Kontrollsuspensionen, die noch zahlreiche neutrophile Granulozyten enthielten, gleichviel Histamin freisetzten (178).

In der vorliegenden Untersuchung konnte mit den vier verschiedenen PMA-Konzentrationen (10 ng/ml, 3 ng/ml, 1 ng/ml, 0,3 ng/ml) sowohl bei den Kontrollpersonen als auch den Patienten nur wenig Histamin freigesetzt werden. Vielleicht war die mehrfach beschriebene PGE_2 -Produktion durch PMA doch so ausgeprägt, daß der zytoprotektive Effekt zu beobachten war. In diesem Fall müßte man annehmen, daß der PMA-induzierte Arachidonsäuremetabolismus hauptsächlich

Über den Zyklooxygenaseweg verläuft und vermehrt Prostaglandine gebildet werden, die die Leukotrien-bedingte Histaminfreisetzung überwiegen.

Da der PGE_2 -Gehalt im Zellüberstand nach PMA-Inkubation nicht gemessen wurde, kann keine Aussage über die Richtigkeit der Hypothese getroffen werden. Anhand der Ergebnisse nach PMA- und PGE_2 -Inkubation kann man sagen, daß eine zusätzliche leichte Hemmung der Histaminfreisetzung durch den Prostaglandineffekt zu beobachten war.

Nach Vorinkubation mit Indomethacin und PMA konnte eine Steigerung der Histaminfreisetzung registriert werden, die zwar im Vergleich zur Sekretion nach PMA o.Z. teilweise signifikant höhere Werte erreichte (s. Tabelle 27, S.73), aber generell geringere Histaminwerte aufwies als es vorher nach Stimulation mit den anderen "Mediatorreleasern" der Fall gewesen war.

Die Auswirkung von NSAID's wie Indomethacin auf PMA wurde von EMERIT und CERUTTI (46) in Bezug auf einen "clastogenen factor" = CF beschrieben. PMA kann die Entstehung des CF (d.h. einer Substanz mit der Fähigkeit, chromosomale Aberrationen zu provozieren) in Lymphozytenkulturen und phytohämagglutininstimuliertem menschlichen Blut induzieren. Die Bildung und Aktivität des CF kann durch SOD (= Superoxiddismutase), Indomethacin, Imidazol und 5,8,11,14-ETYA vermindert werden. Die Hemmwirkung dieser Stoffe läßt vermuten, daß Produkte der Arachidonsäure an der PMA-Clastogenität beteiligt sein könnten. Da die Hemmung durch diese Substanzen jedoch sehr unspezifisch ist, ist nicht klar, welcher Schritt genau gehemmt wird.

Der geringe Histaminanstieg durch Indomethacin und PMA kann nicht mit der Verminderung des CF verglichen werden, da auf

diesem Stand der Ergebnisse noch vollkommen unklar ist, welche gemeinsame Rolle diese beiden Substanzen in der Arachidonsäurekaskade spielen. Durch Untersuchungen von PETERS et al. (147) weiß man nur, daß das Lipoxxygenaseprodukt 5 HPETE zusammen mit PMA eine Steigerung des HR bewirken kann, während 5 HPETE auf die Mediatorfreisetzung durch Anti-IgE keinen Einfluß haben soll.

Wahrscheinlich waren in der vorliegenden Untersuchung die Zyklooxygenasehemmung durch Indomethacin und somit der "shift" zum Lipoxxygenaseweg und zur Bildung von 5 HPETE nicht wirkungsvoll genug, um eine eindrucksvollere Steigerung der Histaminfreisetzung zu bewirken.

Nach Literaturstudium der Autoren SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN (179) wurde ein zusätzlicher "Doppelstimulationsversuch" mit zwei Stimulantien gleichzeitig durchgeführt. Die Simultaninkubation mit PMA 1 ng/ml + Anti-IgE 10^{-2} und PMA 1 ng/ml + Ca-Ionophor 10^{-3} erbrachte generell höhere Werte als die alleinige PMA-Stimulation. Auch im Vergleich zur einfachen Stimulation mit Anti-IgE bzw. Ca-Ionophor konnte die zweifache Inkubation mit dem Tumorpromotor eine größere Histaminsekretion bewirken, allerdings nur um wenige Prozente.

SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN dagegen beschreiben einen synergistischen Effekt der Doppelstimulation (179). Zum Beispiel erreichten suboptimale Konzentrationen von Ca-Ionophor und PMA nur je 3% HR, während sie zusammen über 70% Histamin freisetzten (Histaminwerte dieser Größenordnung wurden bei der vorliegenden Untersuchung nicht erreicht). Die Autoren nehmen an, daß der Synergismus zwischen PMA und Ca-Ionophor A 23187 bei der Histaminfreisetzung das Ergebnis einer zusätzlichen Erhöhung des intrazellulären Kalziums sein könnte.

Die Vorinkubation mit PGE_2 bzw. Indomethacin bei der Doppelstimulation mit Anti-IgE oder Ca-Ionophor zeigte tendenziell ähnliche Resultate wie nach Anti-IgE oder Ca-Ionophor o.Z. : PGE_2 reduzierte und Indomethacin erhöhte die Histaminfreisetzung. Allerdings konnte Indomethacin zusammen mit Ca-Ionophor auch hier keine einheitliche Erhöhung der Histaminwerte bewirken (, wie auch schon bei alleiniger Ca-Ionophor -Inkubation). Erneut wurde bei Patienten der Gruppe II (respiratorische Atopie) der niedrigste Wert mit Indomethacin erreicht, so daß man annehmen könnte, daß bei Patienten mit respiratorischer Atopie durch Indomethacin eher eine Hemmung der Ca-Ionophor -induzierten Histaminfreisetzung provoziert wird.

Auffällig waren die allgemein höheren Werte durch PMA + Anti-IgE im Vergleich zu PMA + Ca-Ionophor , außer bei Patienten mit allergischem Kontaktekzem (Gr.IV), die signifikant höhere Histaminsekretionen nach PMA + Ca-Ionophor aufwiesen ($p \leq 0,05$). Ebenso lagen diese Werte ($\bar{x} = 48,2 \% \pm 24,6 \%$) deutlich über denen der Kontrollpersonen ($\bar{x} = 22,0 \% \pm 15,3 \%$). Außerdem konnten die Histaminwerte nach PMA + Ca-Ionophor durch Indomethacin nicht mehr gesteigert werden.

Bemerkenswert war auch, daß Non-Releaser nach Stimulation mit Anti-IgE bzw. Ca-Ionophor bei der Doppelinkubation mit PMA plötzlich Histamin freisetzten. Schon SCHLEIMER, GILLESPIE und LICHTENSTEIN (179) haben dieses Phänomen beschrieben, wonach "Nonresponder" auf Anti-IgE-Reiz in Verbindung mit PMA Histamin sezernierten. Die Autoren halten es für möglich, daß gewisse Schritte oder Regulationsmechanismen bei beiden Stimuli gemeinsam vorkommen und somit das Zusammenspiel von PMA und Anti-IgE eine vorher latente Histaminantwort auf Anti-IgE o.Z. in eine messbare Mediatorfreisetzung umsetzen kann.

Bei der vorliegenden Untersuchung konnte dies auch für Ca-Ionophor bestätigt werden: "Nonreponder" auf diesen Stimulus wiesen nach Doppelinkubation beachtliche Steigerungen der Histaminsekretion auf.

1.5 HYPOTHESEN ZUM HISTAMIN-RELEASE

In einem zusammenfassenden Schema sollen nochmals alle vier Stimulanzien gemeinsam betrachtet werden:

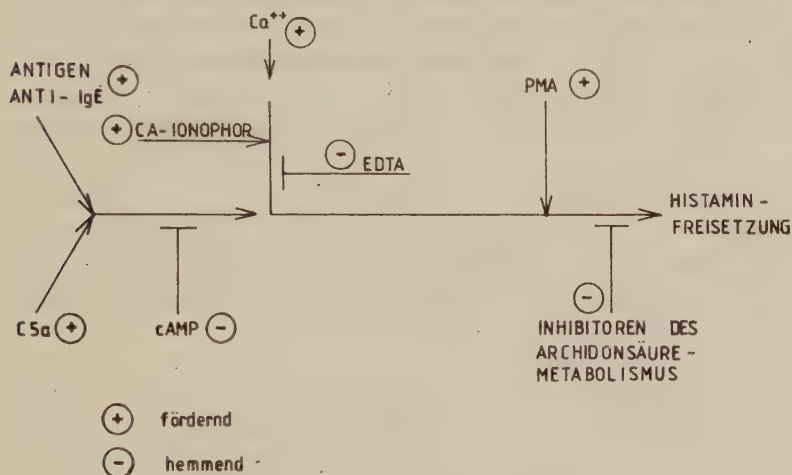


Abb. 20: Schematische Darstellung verschiedener fördernder und hemmender Faktoren der Histaminfreisetzung (aus SCHLEIMER, GILLESPIE, LICHTENSTEIN (178))

Bei humanen basophilen Leukozyten und Mastzellen kann die Histaminsekretion unter anderem durch Anti-IgE, C5a, Ca-Ionophor und PMA ausgelöst werden. Anti-IgE und C5a sind beide kalziumabhängig und werden durch den "second messenger" cAMP beeinflusst. Ca-Ionophor umgeht den ersten Schritt des IgE-vermittelten Releaseprozesses und hat mit den erstgenannten Stimuli nur den zweiten kalziumabhängigen Schritt gemeinsam (121). Somit wirkt der Komplexbildner EDTA hemmend auf die Histaminfreisetzung durch Ca-Ionophor.

Da PMA von extrazellulärem Kalzium unabhängig ist und auch cAMP keine Auswirkung auf den Phorbolester hat, muß es distal der anderen Reizstoffe stehen (178).

Da Hemmstoffe der Phospholipase und des Arachidonsäure-metabolismus den durch alle vier Stimuli induzierten HR vermindern können, finden diese Substanzen ihren Platz ganz rechts auf dem Schema.

2. BEDEUTUNG DER ERHÖHTEN SPONTANEN "RELEASABILITY" UND DES "NONRELEASE" BEI DER ATOPIE

Sowohl in der Gruppe der Patienten als auch der Kontrollpersonen zeigten sich bei einigen Zellspendern auffällig hohe Spontanfreisetzung von Histamin (Leerwert $\geq 15\%$), während andere nur wenig Histamin spontan sezernierten (Leerwert $\leq 2\%$). Diese Grenzwerte treffen auch für die Basalsekretion nach Vorinkubation mit PGE_2 und Indomethacin zu.

Aber auch bei ein und demselben Zellspender gab es je nach Stimulus spezifisch unterschiedliche Histaminfreisetzungsmuster. So war z.B. bei fünf Patienten (aus den Gruppen I, II, III, IV) die Reaktion auf Anti-IgE in der niedrigsten Verdünnung von 10^{-2} besonders ausgeprägt (d.h. $\geq 40\%$ Histaminrelease), wobei die Leerwerte der entsprechenden Patienten im Normbereich lagen ($2\% \leq \text{LW} \leq 15\%$). Die basophilen Leukozyten dieser Patienten setzten als Reaktion auf die Stimuli nur wenig oder kein Histamin frei (s. Tabelle 9, Abb. 1). Bei den Kontrollpersonen konnte eine ähnlich hohe Histaminfreisetzung nach Anti-IgE-Reiz nicht beobachtet werden.

Frau v.d. HELM (218) hat in ihrer Arbeit zeitabhängig die Histaminfreisetzung gemessen und dabei besonders auf den Unterschied zwischen Atopikern und Normalpersonen geachtet. Der HR 1 Minute nach der Anti-IgE-Inkubation war bei beiden Gruppen gleich; nach 5 Minuten hatten die Atopiker signifikant mehr Histamin freigesetzt als die Kontrollpersonen, während der Histamingehalt im Überstand nach 10 Minuten bei beiden Gruppen wieder in der gleichen Größenordnung lag. Die Autorin nimmt eine langsamere Histaminfreisetzung bei Nichtatopikern an.

Die Histaminwerte der vorliegenden Untersuchung sind sofort nach Beendigung der Inkubation gemessen worden (bzw. die Proben wurden sofort eingefroren, so daß ein weiterer "Mediator Release" nicht mehr möglich war) und müssen also mit den oben genannten "Einminutenwerten" verglichen werden. Hierbei unterscheiden sich in allen Fällen die Gruppenmittelwerte um ca. 5% von der Kontrollgruppe und der Mittelwert der Gruppe I lag sogar um fast 10% höher als der Mittelwert der Gruppe der Nichtatopiker (s. Tab. 24, S.59: Histaminwerte nach Inkubation mit Anti-IgE). Da auch beim Vergleich der Einzelergebnisse keine der Kontrollpersonen erhöhte Histaminwerte ($\geq 40\%$) aufwies, waren bei uns die in der Arbeit von Frau v.d. HELM erst nach 5 Minuten beobachteten Unterschiede zwischen Atopikern und Normalpersonen nach Anti-IgE-Stimulation bereits in der ersten Minute manifest.

Wie bereits in Kapitel 1.3 erwähnt, ergaben sich die unterschiedlichsten Kombinationen von "High-Releasern" bei der einen Substanz und "Non-Releasern" bei einer anderen Substanz, wobei sich keinerlei eindeutige Gemeinsamkeiten ergaben. Man könnte die Hypothese von unbekannten individuellen Regelmechanismen aufstellen, die keinen Zusammenhang mit Alter, Geschlecht, IgE-Spiegel und Gruppenzugehörigkeit aufweisen.

In diesem Zusammenhang sollte man die von CONROY et al. (30/165) beschriebene erhöhte Freisetzungsfreudigkeit (= "Releasability") der basophilen Leukozyten und Mastzellen der Atopiker erwähnen. Die Autoren berichten, daß eine gesteigerte "Releasability" nicht allein von einer einfachen Vermehrung der IgE-Moleküle auf der Zelloberfläche noch von der Höhe des spezifischen IgE-Antikörpertiters im RAST (= Radio-Allergo-Sorbent-Test) abhängig ist, sondern daß Zellen mit der gleichen Anzahl an IgE-Molekülen unterschiedliche Zellsensitivität aufweisen,

daß also ein nicht immunologischer Parameter, die "Releasability", für die erhöhte Histaminfreisetzung verantwortlich zu machen ist. Für die nicht immunologisch bedingte vermehrte Reaktionsbereitschaft mediatorseziernder Zellen wurde auch der Ausdruck "liberzessive Reaktion" vorgeschlagen (164).

Ob eine solche Reaktionsbereitschaft genetisch bedingt oder erworben ist, kann nicht mit Sicherheit gesagt werden, denn man hat z.B. beobachtet, daß sich die Empfindlichkeit eines Patienten im Laufe des Lebens ändern kann. PARKER et al. (143) haben herausgefunden, daß der "Defekt" der Atopiker mit respiratorischer Symptomatik während eines Asthmaanfalls ausgeprägter zu sein scheint als während der beschwerdefreien Intervalle.

CONROY et al. (31) untersuchte zwei Patientengruppen, um das Konzept der "Releasability" veranschaulichen zu können. Die erste Gruppe wies ein niedriges Serum- und zellgebundenes IgE auf, dennoch reagierten die basophilen Granulozyten sehr empfindlich auf den Reiz durch Anti-IgE. Die zweite Gruppe umfaßte Patienten mit positiver Anamnese für atopische Erkrankungen, deren Serum IgE-Antikörper enthielt. Dennoch führte hier die Stimulation der entsprechenden Zellen mit spezifischem Antigen oder Anti-IgE nicht zu einer Histaminfreisetzung. Die Tatsache, daß die Histaminausschüttung durch Anti-IgE nicht mit dem Serum-IgE-Spiegel oder der Anzahl an zellgebundenen IgE-Molekülen korreliert, zeigt, daß die "Releasability" ein Parameter per se ist.

Experimente von RING et al. (164/166) zeigen, daß es sich bei der erhöhten Freisetzungsfreudigkeit um ein nicht-immunologisches Phänomen handelt, also ohne Beteiligung von IgE-vermittelten Mechanismen. Mit Hilfe von niedrig konzentriertem Röntgenkontrastmittel stimulierten die Untersucher die gewaschenen Leukozyten von Atopikern und

erreichten damit signifikant höhere Werte bei der Patientengruppe als bei den Normalpersonen (156/157/159). Die erhöhte Freisetzungsfreudigkeit war auch nicht mit Serum übertragbar: Leukozyten von Normalpersonen zeigten keinen erhöhten HR, nachdem sie mit Serum von "high-releasing" Patienten inkubiert und anschließend mit dem Röntgenkontrastmittel stimuliert worden waren (155/157).

Die veränderte "Releasability" bei Atopikern wird von einer gesteigerten alpha-adrenergen und einer cholinergen Überempfindlichkeit und der sogenannten beta-Blockade begleitet (19/30/83/152/158/159/162/165/213).

SZENTIVANYI (200), der die beta-Blockade 1968 zum ersten Mal beschrieb, hat festgestellt, daß Atopiker auf beta-adrenerge Reize schwächer als Normalpersonen reagieren. Katecholamine mit beta-adrenergen Aktivitäten haben im allgemeinen aktivierende Wirkung auf die Adenylzyklase, einem Enzym, das intrazellulär ATP in cAMP überführt und somit dessen Anteil erhöht (nur in den Thrombozyten führt Adrenalin zu einer Hemmung der Adenylzyklase) (154).

Inzwischen nimmt man an, daß die Stimulation mit beta-adrenergen Substanzen bei Atopikern deutlich geringere cAMP-Anstiege auslöst als bei Normalpersonen (25/143/144/163) und somit zu einer verstärkten Freisetzung vasoaktiver Mediatorsubstanzen Anlaß gibt.

Andererseits können alpha-Agonisten und Cholinergika, also Substanzen, die die cAMP-Konzentration erniedrigen, die Mediatorfreisetzung fördern (50). Histamin als einer der Mediatoren hat nicht nur Auswirkungen auf die Kapillaren, das Kreislaufsystem und die Bronchien, sondern auch auf die Lymphozyten: Man weiß, daß Histamin speziell die T-Zell-Funktionen in vitro und in vivo hemmen kann (27/50/69/158/159/222). Besonders die Suppressor-T-Zellen besitzen His-

tamin-Rezeptoren und reagieren sehr sensitiv auf diesen Mediator. Bei Patienten mit atopischem Ekzem wurde eine erhöhte Empfindlichkeit der T-Zellen gegenüber Histamin beobachtet (195). Somit könnte eine erhöhte Histaminkonzentration die bekannten zellvermittelten Immunstörungen bei Patienten mit Atopie (z.B. *Eccema herpeticatum*) erklären als auch bei der Entstehung von vermehrten IgE-Antikörpern mit von Bedeutung sein (102/201/202). Natürlich dürfen niemals die bekannten genetischen Beziehungen vergessen werden (15/64/108/129).

Allerdings können die oben zitierten Untersuchungen nicht klären, warum in den vorliegenden Versuchen auch bei Kontrollpersonen "High-Releaser" gefunden wurden. Vielleicht liegen auch hier eine zelluläre Immunschwäche, erhöhte IgE-Antikörper, eine verminderte Reaktivität des cAMP-Systems latent vor, ohne daß es ein klinisches Korrelat dazu gibt. In dieser Untersuchung ließ sich mit den hier getesteten Stimuli und verwendeten Konzentrationen die Theorie einer generell erhöhten "Releasability" gegen alle Reize bei Atopikern nicht bestätigen. Vielmehr scheint es sich um ein viel spezifischeres Phänomen zu handeln als bisher vermutet.

So zeigen manche Patienten nur auf bestimmte Stimuli eine erhöhte Freisetzungsbereitschaft, so daß man an eine spezifische "Releasability" denken muß: z.B. reagieren Patienten der Gruppe I (atopisches Ekzem) mit auffällig hohen Histaminwerten nach Stimulation mit Anti-IgE, während Patienten der Gruppe III (sonstige Soforttyp-Allergien, Bienen- und Wespengiftallergie, Arznei- und Nahrungsmittelallergie) einen erhöhten "Release" nach C5a-Stimulation aufweisen. Entsprechende Untersuchungen an einem ausgewählten Patientengut sollten klären, inwieweit die verschiedenen Krankheitssymptome des atopischen Ekzems über Reaktionsmechanismen ausgelöst werden, die die Theorie einer spezifisch veränderten "Releasability" bestätigen könnten.

3. EINFLÜSSE DES PROSTAGLANDINSTOFFWECHSELS AUF DIE HISTAMINFREISETZUNG UND BEDEUTUNG FÜR DIE PATHO- PHYSIOLOGIE ATOPISCHER ERKRANKUNGEN

Aus Membranphospholipiden wird durch Aktivierung der Phospholipase A Arachidonsäure freigesetzt und durch einen Multienzymkomplex zu hoch ungesättigten zyklischen Fettsäuren synthetisiert. Die Aktivität des Prostaglandinsystems wird durch hormonale, neurale und mechanische Reize sowie durch intrazelluläre Ionenkonzentrationen und Enzymaktivitäten beeinflusst (112/223).

Die Prostaglandine werden nach ihrer Synthese sofort sezerniert und wirken in unmittelbarer Nähe ihres Synthesorts. Die meisten Prostaglandine haben Halbwertszeiten zwischen wenigen Sekunden und einigen Minuten (11/64/110/172/173/180). Die biologischen Halbwertszeiten der klassischen Prostaglandine PGE_2 und PGF_2 alpha liegen unter einer Minute.

Für die meisten Stimuli wird die Aktivierung der Phospholipase A durch Steigerung der intrazellulären Kalziumkonzentration als wahrscheinlichster Mechanismus angesehen (223). Weiterhin spielen Strukturänderungen der phospholipidhaltigen Zellmembran und Konfigurationsänderungen der Phospholipidmoleküle eine entscheidende Rolle bei der Aktivierung des Enzyms (151).

Die Prostaglandinsynthese kann durch Aspirin, Indomethacin und andere nicht-steroidale Antiphlogistika, Antioxidantien sowie durch Glukokortikoide gehemmt werden (24/75/123/125/126/211). Außergewöhnlich ist die Selbstinaktivierung des membrangebundenen PG-Zykloxygenasekomplexes während der enzymatischen Reaktion. Es handelt sich dabei nicht um die oft beobachtete negative Feedback-Kontrolle, sondern um eine irreversible Inaktivie-

rung durch Sauerstoffradikale, die beim Abbau des Endoperoxids PGG_2 entstehen. Werden solche Radikale durch Phenole oder Hydrochinone (bekannte Stimulatoren der Zyklo-oxygenase) abgefangen, so steigt die Prostaglandinsynthese wieder an (113/223).

Die Biosynthese der Prostaglandine erfolgt von der Arachidonsäure ausgehend über die biologisch außerordentlich wirksamen Endoperoxide PGG_2 und PGH_2 . Unter Einwirkung von Isomerasen und Reduktasen entstehen in den meisten Organen PGE_2 , PGD_2 und PGF_2 α . In der Gefäßwand wird aus den Endoperoxiden das Prostazyklin (PGI_2) synthetisiert, während die Thromboxane A_2 und B_2 bevorzugt in den Blutplättchen, Lunge, Milz und Niere entstehen (s. Abb. 21, S. 118) (24/76/85/173/185/212).

Eine Reihe von Erkrankungen kann auf eine Störung des Gleichgewichts im Prostazyklin-Thromboxan-System zurückgeführt werden. So sind bei Erkrankungen mit Thrombosetendenz die TXA_2 -Produktion erhöht (thrombozytenaggregationsfördernd, gefäßverengend) oder die PGI_2 -Synthese (thrombozytenaggregationshemmend, gefäßdilatierend) vermindert (1/113/122/185/227).

Ende der siebziger Jahre wurde eine weitere Substanzgruppe entdeckt, die ebenfalls von der Arachidonsäure abstammt, aber über den Lipoxygenaseweg synthetisiert wird: die Hydroxyfettsäuren (HETE) und die Leukotriene (9/109/130/137/175). Ihre Hauptwirkung scheint in der Beteiligung an Entzündungsreaktionen, wie Chemotaxis und Gefäßpermeabilitätssteigerung zu bestehen. Jedoch wurden auch Reaktionen auf Bronchial- und Darmmuskulatur gefunden (1).

MURPHY et al. (137) haben entdeckt, daß auch Leukotriene die Kontraktion von Meerschweinchenileum bewirken können (wie Azetylcholin und endogene Hirnopiote). Die Autoren glauben, daß die Leukotriene die Nervenstimulation als Langzeitregulatoren beeinflussen, zumindest während allergischer Reaktionen.

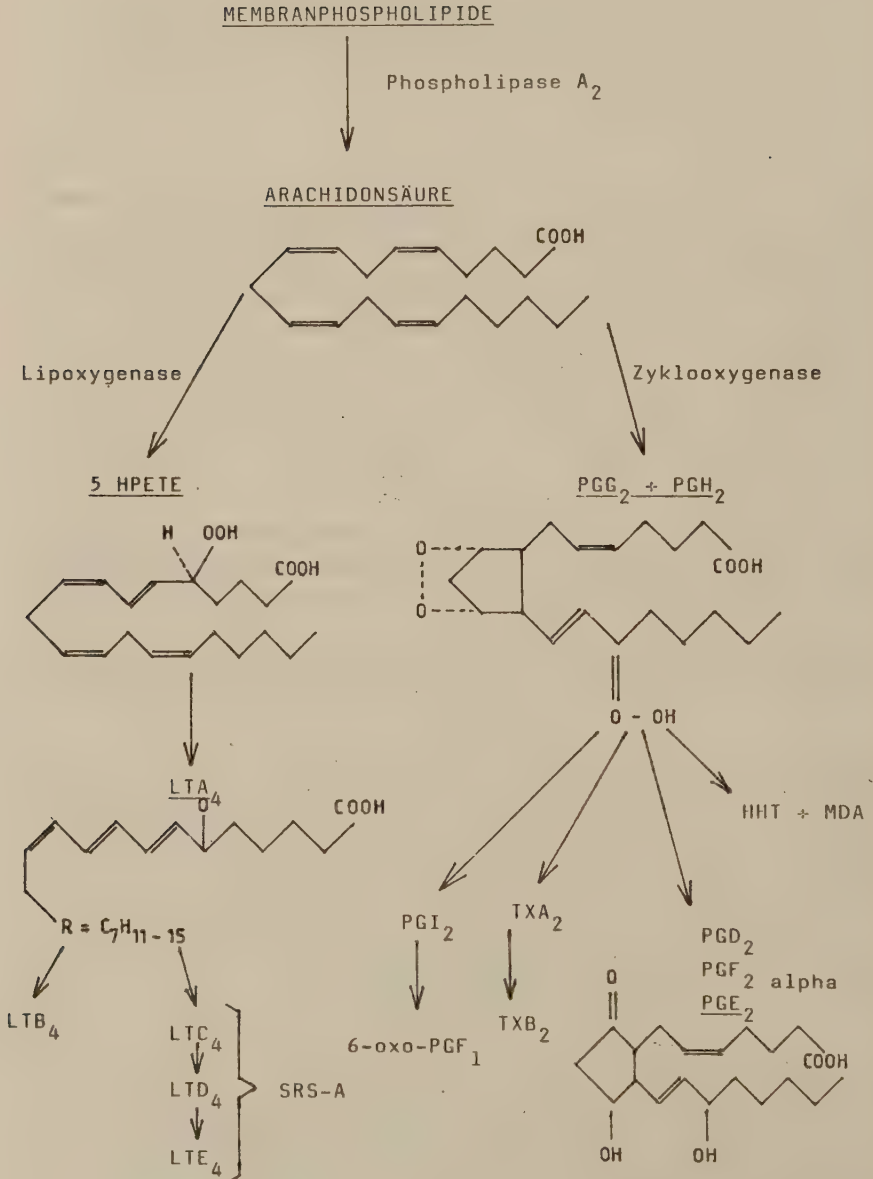


Abb. 21: Arachidonsäuremetabolismus (aus (130/174/185))

Es gibt offensichtlich Familien, die über einen genetisch bedingten Zykllooxygenasemangel verfügen. Auch das Fehlen von Thrombozyten-Rezeptoren für Prostazyklin und PGE_1 wurde bekannt durch das Auftreten von arteriellen Verschlüssen bei einem 11-jährigen Mädchen, bei welchem sonst keine Ursache für die Entstehung der Gefäßveränderung gefunden werden konnte. Ungeklärt blieb aber, warum andere Familienmitglieder mit dem gleichen Defekt und höherem Alter klinisch nicht erkrankten (185).

Jede Zelle und jedes Organ verfügt über ein spezifisches Synthesemuster und eine bestimmte Synthesemenge, die unter pathologischen Bedingungen stark variieren können. Bei Entzündungen hängen die Syntheseprodukte von den momentan dominierenden Zellen ab: Monozyten produzieren Prostaglandine, während Leukozyten Produkte des Lipoxygenasewegs synthetisieren (145).

Nach SZCZEKLIK et al. (199) scheint der Arachidonsäuremetabolismus in die eine oder andere Richtung auch von den Sauerstoffmolekülen abzuhängen:

- werden 2 Moleküle O_2 an die freie Arachidonsäure gebunden, so wird die Zykllooxygenase aktiviert
- bei nur einem Molekül O_2 und freier Arachidonsäure wird die Lipoxygenase aktiviert.

Außerdem kann über Zykllooxygenasehemmer der Arachidonsäuremetabolismus in Richtung der Lipoxygenase verschoben werden (199).

Sicher ist, daß die Kardinalsymptome der Entzündung durch die chemisch verwandten Prostaglandine und Lipoxygenaseprodukte direkt oder indirekt verursacht werden. Allerdings können auch Leukotriene die PGI_2 -Synthetase stimulieren und so für die biphasische Wirkung, also zuerst

Vasodilatation und dann Vasokonstriktion, verantwortlich sein (122). An der Meerschweinchenlunge können LTC_4 und LTD_4 den Prostazyklingegenspieler TXA_2 freisetzen (130/185).

Die Wirkung einiger Zyklooxygenaseprodukte und der Leukotriene ergänzen sich: Bei der Ödembildung besteht ein Synergismus zwischen den Vasodilatoren PGE_2 und Prostazyklin und den Leukotrienen, die über eine Permeabilitäts-erhöhung einen Plasmaverlust bewirken. Außerdem leuchtet ein Synergismus zwischen den Leukotrienen und dem TXA_2 ein, die beide als potente Bronchokonstriktoren fungieren (130/185).

Andererseits können die Lipxygenaseprodukte die Wirkung der Zyklooxygenaseprodukte auch antagonisieren: Während die Prostaglandine im allgemeinen die Blutgefäße erweitern, werden sie durch die Leukotriene kontrahiert. VANE et al. (212) stellten fest, daß Lipoperoxide wie z.B. 15 HPETE die Prostazyklin-Bildung hemmen können. Die Autoren nehmen an, daß diese Hemmung durch Produkte des Lipxygenasewegs die Ursache für die gesteigerte Tendenz zu thrombotischen Komplikationen bei Arteriosklerose sein könnte.

Gegensätzliche Effekte können aber auch innerhalb der Zyklooxygenaseprodukte beobachtet werden: Wie bereits erwähnt, wirken die Prostazykline vasodilatierend, hemmend auf die Gefäßmuskulatur, während TXA_2 vasokonstriktorische, aggregationsfördernde und muskelkontrahierende Eigenschaften hat (1/113).

An der Bronchialmuskulatur haben PGE_2 und $\text{PGF}_2 \alpha$ entgegengesetzte Wirkungen. Nach Inhalation von PGE_2 beobachtet man eine Relaxation der Bronchialmuskulatur, während $\text{PGF}_2 \alpha$ zur Bronchokonstriktion führt (1/76). Eine Blockade der Prostaglandin-Synthetase beraubt die Luftwege ihrer natürlichen Bronchodilatoren bzw. Kon-

striktoren. Wenn also das Gleichgewicht dieser beiden Substanzen gestört ist, so können "aspirine-like drugs" sowohl asthmaauslösende als auch hemmende Effekte ausüben. Beides wird in der Literatur beschrieben (6/24/28).

Es wird vermutet, daß den Prostaglandinen bzw. ihrer Vorstufen eine wichtige Rolle in der Pathogenese des allergischen Asthma bronchiale zukommt. Bei diesen Patienten stieg der Hauptmetabolit $\text{PGF}_2 \alpha$ im Plasma um das 8-fache an. Asthmatiker reagieren bei Inhalation von $\text{PGF}_2 \alpha$ mit einer wesentlich stärkeren Bronchokonstriktion als Gesunde (76/203). Auch MATHE und HORTON (91/132) haben ein relatives Überwiegen der PGF -Fraktion im Vergleich zur PGE -Fraktion für die Asthmasymptomatik verantwortlich gemacht.

Dagegen berichten OKAZAKI et al. (141) übereinstimmend mit ALLEGRA et al. (4) von erhöhten PGE -Konzentrationen bei Asthmatikern im Vergleich zu Normalpersonen und von einem erhöhten PGE/PGF -Quotienten. Diese Autoren halten die vermehrte PGE -Synthese beim Asthma für einen Kompensationsmechanismus, der die Mediatorenfreisetzung und Bronchokonstriktion regulieren soll.

Eine wichtige Rolle beim allergischen Asthma bronchiale wird auch der SRS-A , einem starken Bronchokonstriktor, zugeschrieben (8/72/174). Nach AUSTEN scheint SRS-A vor allen Dingen die kleinen peripheren Luftwege zu kontrahieren, während Histamin und $\text{PGF}_2 \alpha$ hier nur wenig Wirkung entfalten (8/130). SAMUELSSON berichtet, daß die SRS-A auf molekularer Basis 100 - 1000 x aktiver ist in Bezug auf die Luftwege als Histamin oder Prostaglandin (174).

Auch bei der Hautsymptomatik atopischer Erkrankungen könnte der Prostaglandinstoffwechsel eine wichtige Rolle spielen. CRUNKHORN und WILLIS (33) untersuchten, ob und in welchem Ausmaß die intradermale Injektion von Prostaglandinen

Entzündungen beim Menschen hervorzurufen vermag. Nanogramm-Dosen von PGE_1 und PGE_2 führten zu deutlichen Entzündungserscheinungen. Aus der wesentlich stärkeren Wirkung der PGE -Typen im Vergleich zu den PGF -Typen schließen die Autoren, daß die PGE 's für die gesteigerte Gefäßpermeabilität verantwortlich seien. An der maßgeblichen Beteiligung der Prostaglandine an der Entstehung und Aufrechterhaltung von Entzündungen besteht kein Zweifel mehr, so daß auch der antiphlogistische Effekt der Azetylsalicylsäure hier seine Erklärung findet (24), d.h. die auf Prostaglandin-Überproduktion beruhenden Symptome werden verhindert.

Ebenso testeten HÄGERMARK und STRANDBERG (79) die Hautreaktion von PGE_2 und Histamin, jeweils alleine und in Kombination, als auch die Wirkung einer Vorbehandlung mit Antihistaminika. Die Autoren nehmen an, daß PGE_2 Histamin freisetzen kann, da intradermale PGE_1 -Injektionen den Histamingehalt der Haut herabsetzen können. Die initiale Erythemphase als auch der Juckreiz nach PGE_2 -Injektion scheinen durch freigesetztes Histamin ausgelöst worden zu sein und wahrscheinlich verstärken die PGE 's nur die Histaminreaktionen in der menschlichen Haut (79).

Im Widerspruch dazu stehen Untersuchungen von MATHÉ et al. (134) an sensibilisierter Meerschweinchenlunge. Sie konnten eine maximale Histaminfreisetzung während der ersten Minute einer Antigeninfusion nachweisen, während die Prostaglandinkonzentration erst nach Ende der Antigenanwendung anstieg. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen von STRANDBERG et al. (194), die bei menschlichem Lungengewebe und Rattenmastzellen herausfanden, daß die Histaminfreisetzung der Freisetzung der Histamine vorausgeht und daß der Ursprung dieser beiden Substanzen nicht identisch ist. Während Histamin von den Mastzellen freigesetzt wird, scheinen die Prostaglandine von anderen Zellen in der Nähe der Mastzellen zu stammen, da nämlich

bei anaphylaktischen Reaktionen die Histaminfreisetzung ansteigt, nicht aber die Prostaglandinfreisetzung.

Ca-Ionophore induzieren in Thrombozyten über eine Kalziummobilisation aus intrazellulären Speichern die Aggregation und "Releasereaktion" und erhöhen über die Aktivierung der Phospholipase A_2 die thrombozytäre PG- und Thromboxanbildung (223) (Thrombozyten sind besonders reiche PGE_2 -Quellen (3)). Möglicherweise fungieren PG-Endoperoxide und TXA_2 als physiologische Ca-Ionophore und unterhalten auf diese Weise einen positiven Feedback (223).

PGE_2 hat Auswirkungen auf die Kalziummobilisation in vielen verschiedenen Geweben (5/82). Wenn man PGE_2 zu Indomethacin-vorinkubierter Muskulatur gibt, unterdrückt es die Kontraktion nach zusätzlichem Histaminreiz. Die Autoren ANDERSON et al. (5) nehmen an, daß Histamin zuerst locker gebundenes Kalzium, eventuell auch extrazelluläre Kalziumquellen, mobilisiert und daß diese Reaktionen wiederum unter PGE_2 -Einfluß stehen.

Quantitative Studien während der Bildung der Lipoxxygenaseprodukte bei menschlichen Leukozyten zeigen, daß Ca-Ionophore A 23187 die 5 HETE und 5,12 DHETE-Synthese stimulieren konnte ebenso wie die Freisetzung von SRS-A aus den Leukozyten (10/20/29/130). In vitro konnte BACH auch bei Rattenmastzellen eine Histamin- und SRS-A-Sezernation nach Ca-Ionophor -Inkubation feststellen (10). Nach Untersuchungen von SAMUELSSON scheint SRS-A eine Mischung der Zystein-haltigen Leukotriene zu sein, d.h. LTC_4 und seiner Metabolite LTD_4 und LTE_4 (174/199).

5 HPETE und 5 HETE sind die beiden potentesten Lipoxxygenaseprodukte in Bezug auf die Mediatorenfreisetzung (147). 5 HPETE erhöht den "Release" nach Stimulation mit Ca-Ionophor A 23187, PMA und Antigen, nicht aber nach Anti-IgE

und C5a. Ob allerdings 5 'HPETE per se wirksam ist oder der Metabolit 5 HETE, ist nach Aussagen der Autoren PETERS et al.(147) nicht sicher festzustellen. Eventuell läßt sich die bei der vorliegenden Untersuchung beobachtete fehlende Hemmung durch PGE_2 bei dem Ca-Ionophor A 23187 - induzierten Release durch eine Überproduktion der Lipoxygenaseprodukte 5 HPETE und 5 HETE erklären.

5 HETE und 12 HETE können die Histaminfreisetzung aus Rattenmastzellen erhöhen (193). ETYA, ein Arachidonsäurederivat, kann die Bildung dieser beiden Substanzen verhindern. Da ETYA aber nicht nur den Lipoxxygenaseweg hemmen kann, sondern auch den Zykllooxygenasemetabolismus (55/80/126/198), haben Indomethacin und Aspirin (also isolierte Zykllooxygenasehemmer) bei Versuchen mit normalen Mastzellen als auch mit Antigen-stimulierten Mastzellen keinen Einfluß mehr auf die Histaminfreisetzung (128). Glukokortikoide hemmen den Zykllooxygenaseweg und den Lipoxxygenaseweg, indem sie die Freisetzung der Arachidonsäure verhindern. Somit könnte auch die Hemmung der Leukotrienbildung für einige der therapeutischen Kortikoidwirkungen verantwortlich sein, wofür die aspirinähnlichen Substanzen nicht in Frage kommen (24/113).

Indomethacin kann normalerweise eine Erhöhung der Histaminsekretion bewirken. Somit wird es wahrscheinlich, daß ein Produkt des Lipoxxygenasewegs die Histaminfreisetzung bewirkt. Unterstützt wird diese Hypothese durch Beobachtungen, wonach die Arachidonsäure selbst den "Mediator Release" fördert, unabhängig davon, ob mit Indomethacin vorinkubiert wurde oder nicht (185). ENGINEER et al. (47/48/203) schließen aus den oben gemachten Ausführungen, daß die Prostaglandine oder ein anderes Zykllooxygenaseprodukt die anaphylaktische Freisetzung von SRS-A und Histamin unterdrückt.

ETYA hemmt dosisabhängig den Antigen-vermittelten HR bei menschlichen basophilen Leukozyten, wie auch von unserer Arbeitsgruppe gefunden wurde (40), und zwar gleichstark bei Atopikern und Kontrollpersonen. NSAID's wie Indomethacin können über eine Blockierung der PG-Synthetase den "SRS-A-Release" und die Histaminfreisetzung ebenso dosisabhängig steigern (47/48/203). Allerdings hatten NSAID's nur einen Einfluß auf Substanzen, die über eine Aktivierung der membrangebundenen Adenylzyklase agieren. Eine Hemmung durch z.B. Dibutyryl-cAMP oder 2-Deoxyglukose, die nicht über die Adenylzyklase reagieren, kann nicht rückgängig gemacht werden. Nach Meinung der Autoren könnte die Ursache in der "Kompartimentalisierung" der zyklischen Nukleotide liegen (147). Somit sind Lipoxxygenaseprodukte für den IgE-vermittelten "Release" notwendig und wahrscheinlich haben diese Substanzen auch Einfluß auf die Adenylzyklase-gebundenen Kontrollmechanismen (126).

Mit differenzierten Experimenten haben BOOT et al. (17) festgestellt, daß die NSAID's bevorzugt die Enzyme der Prostaglandinbildung hemmen und wenig Einfluß auf die Thromboxanbildung haben, anstatt wie sonst berichtet, alle Produkte des Zyklooxygenasewegs zu hemmen.

Verschiedene Autoren (2/7/17/133/203) stellten fest, daß PGE_2 , PGE_1 und PGF_2 die Histaminfreisetzung und den SRS-A-Release bei Antigen-stimuliertem menschlichem Lungengewebe hemmen können. Ein anderes Zyklooxygenaseprodukt, das Thromboxan B_2 , kann die SRS-A-Freisetzung bei stimulierter Meer-schweinchenlunge fördern (18). Wenn also TXB_2 seine Wirkung auf die Zellen ausüben kann und Indomethacin die Thromboxanbildung nicht immer komplett hemmen kann, so kann dies für eine Zyklooxygenase-bedingte SRS-A-Erhöhung sprechen und dadurch vermehrt Histamin freisetzen.

Im Gegensatz zu den endogenen Arachidonsäurederivaten konnten laut ENGINEER et al. (48) weder die exogen zugeführten Arachidonsäuren noch die Prostaglandine die Freisetzung von SRS-A und Histamin hemmen, sondern erhöhten den "Release". Die Untersucher halten es für sehr wahrscheinlich, daß die Arachidonsäuren vermehrt zu Thromboxanen umgewandelt werden, die den "Release" fördern.

Ferner zeigten TAUBER et al. (203) anhand von Histamin und SRS-A-Messungen, daß niedrige Prostaglandinkonzentrationen ($5 \times 10^{-8} \text{M}$) den Mediator Release steigern können und, wie bereits öfters erwähnt, hohe PGE_2 -Konzentrationen (10^{-4} - 10^{-6}M) den Antigen-vermittelten "Release" hemmen.

SALARI et al. (171) haben aber auch eine gewisse Hemmung der Lipoxygenasen durch Indomethacin (10^{-5}M) beobachtet. Die Autoren stellten vor allen Dingen eine Hemmung der 5 - Lipoxygenasen und 12 - Lipoxygenasen bei menschlichen Leukozyten und Thrombozyten fest, wobei die Wirkung beim letztgenannten Enzym am ausgeprägtesten war.

Diese verschiedenen Ausführungen haben SZCZEKIK und GRYGLEWSKI (199) zur Erklärung des "Aspirin-induzierten Asthma" herangezogen. Als mögliche Pathogenese diskutieren die Autoren, daß erstens die Atemwege der aspirinintoleranten Asthmatiker sensitiver auf Leukotriene reagieren als andere Asthmatiker, und daß diese aspirinintoleranten Patienten zweitens mehr als andere von der bronchodilatatorischen Wirkung des PGE_2 abhängig sind.

Während die Prostaglandine teilweise wichtige biologische Regulationsfunktionen ausüben, scheint die Wirkung der Lipoxygenaseprodukte nur pathologischer Natur zu sein (113). Das wachsende Wissen über das Leukotriensystem zeigt neue Möglichkeiten in der Entwicklung von neuen und spezifischeren Therapeutika auf. Solche Substanzen könnten als

Antagonisten der Endprodukte agieren, als Enzyminhibitoren oder Einfluß auf die Bildung oder Transformation der "Schlüsselsubstanz" LTA_4 nehmen.

Es ist zu erwarten, daß die zukünftige Prostaglandinforschung sich hauptsächlich auf die Bedeutung der neu entdeckten, biologisch hoch aktiven Substanzen für physiologische und pathophysiologische Zustände hin orientieren wird. Ein wesentlicher Fortschritt wird durch die Verwendung von spezifischen Hemmstoffen zu erzielen sein, die die einzelnen Komponenten des Prostaglandinsystems gezielter beeinflussen können als es bisher möglich war.

E. ZUSAMMENFASSUNG

Die basophilen Leukozyten von 43 Patienten und 13 Kontrollpersonen wurden mit vier unterschiedlich wirkenden Stimuli (Anti-IgE, Ca-Ionophor, C5a, PMA) unter Einfluß von PGE_2 und Indomethacin in Bezug auf ihre Histaminfreisetzung untersucht. Anhand der Diagnosen wurden die Patienten in vier Gruppen eingeteilt.

Die Vorinkubation mit Indomethacin führte zu einer signifikanten Erhöhung des Histamin Release bei den Patienten- und der Kontrollgruppe nach Stimulation mit Anti-IgE und Ca-Ionophor. Besonders bei den Patienten mit atopischem Ekzem (Gr.I) zeigte sich nach Stimulation mit Anti-IgE eine vermehrte Mediatorsekretion im Vergleich zur Kontrollgruppe, die durch Indomethacin zu einer signifikanten Sekretion gesteigert werden konnte. Für Ca-Ionophor fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Untersuchungsgruppen. Die Histaminmenge im Überstand lag allgemein unter den Anti-IgE-induzierten Freisetzungen.

Das auffälligste Ergebnis wurde mit C5a nach Vorinkubation mit Indomethacin erreicht: Während der Zyklusoxxygenasehemmer zusammen mit allen anderen Stimuli eine vermehrte Histaminfreisetzung bewirken konnte, trat hier bei allen Gruppen und der Gruppe der Kontrollpersonen (außer Gr.I) eine signifikante Hemmung der Mediatorfreisetzung im Vergleich zur C5a-Stimulation o.Z. auf. Bei einer geschlechtsspezifischen Untersuchung fiel das Überwiegen der weiblichen Mittelwerte nach C5a-Inkubation gegenüber den männlichen Mittelwerten in 8 von 9 Fällen auf (teilweise signifikant).

PMA zeigte bei allen Gruppen praktisch keinen Effekt auf die Histaminfreisetzung (zusammen mit PGE_2 wurde eine leichte Hemmung erzielt; zusammen mit Indomethacin teilweise signifikante Steigerungen, jedoch lagen die Histaminwerte wesentlich unter den Freisetzungen nach Stimulation mit Anti-IgE, Ca-Ionophor und C5a)

Durch Doppelstimulation mit PMA + Anti-IgE und PMA + Ca-Ionophore konnte der Histamin Release nochmals erhöht werden im Vergleich zur Inkubation mit dem Stimulus allein. Wie bereits bei den Inkubationen mit Anti-IgE oder Ca-Ionophor o.Z. lagen auch bei der Doppelstimulation die Anti-IgE-Werte höher als die Ca-Ionophor -Werte außer in Gr. IV (allergisches Kontaktekzem), die signifikant höhere Histaminfreisetzungen nach PMA + Ca-Ionophor aufwies als nach PMA + Anti-IgE.

Durch die zweifache Inkubation konnte bei "Non-Releasern" nach einem Stimulus (Anti-IgE oder Ca-Ionophor) in Verbindung mit PMA Histamin freigesetzt werden.

Der "zytoprotektive Effekt" des PGE_2 zeigte sich zusammen mit Anti-IgE und PMA durch eine Hemmung der Histaminfreisetzung (kein Effekt auf die Ca-Ionophor- und C5a-stimulierten Zellen).

Ein besonderes Problem stellten die "High-Releaser" und "Non-Releaser" als Reaktion auf einen Stimulus oder alle Stimuli gleichzeitig dar. Es konnten keine eindeutigen Gemeinsamkeiten für das Phänomen des "High-Release" oder des "Non-Release" gefunden werden. Die erhöhte "Releasability" ist somit als individualspezifische Größe zu betrachten, die weiterer Untersuchungen bedarf.

G. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADAM, O.: Prostaglandine und andere Stoffwechselprodukte essentieller Fettsäuren. Med. Klin. 78: 182-189 (1983)
2. ADAMS, G.K.; LICHTENSTEIN, L.M.: In vitro studies of antigen-induced bronchospasm: Effect of antihistamine and SRS-A antagonist on response of sensitized guinea-pig and human airways to antigen. J. Immunol. 122: 555-562 (1972)
3. ADKINSON, N.F.; BARRON, I.; POWELL, S.; COHEN, S.: Prostaglandin production by human peripheral blood cells in vitro. J. Lab. Clin. Med. 90: 1043-1052 (1977)
4. ALLEGRA, J.; TRAUTLEIN, J.; DEMERS, L.; FIELD, J.; GILLIN, M.: Peripheral plasma determinations of prostaglandin E in asthmatics. J. Allergy Clin. Immunol. 58: 546 (1976)
5. ANDERSON, W.H.; KRZANOWSKI, J.J.; POLSON, J.B.; SENTIVANYI, A.: The effect of prostaglandin E₂ on histamine stimulated calcium mobilization as a possible explanation for histamine-tachyphylaxis in canine tracheal smooth muscle. Arch. Pharmacol. 322: 72-77 (1983)
6. ASSEM, E.S.K.; SCHILD, H.O.: Inhibition by sympathomimetic amines of histamine release by antigen in passively sensitized human lung. Nature 224: 1028 (1969)
7. AUSTEN, K.F.: Reaction mechanisms in the release of mediators of immediate hypersensitivity from human lung tissue. Fed. Proc. 33: 2256-2262 (1974)
8. AUSTEN, K.F.: Hemostasis of effector systems which can be recruited for immunological reactions. J. Immunol. 121: 793-805 (1978)
9. BACH, M.K.; BRASHLER, J.R.; GORMAN, R.R.: Slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) is a metabolite of arachidonic acid. Fed. Proc. 36: 376 (1977)
10. BACH, M.K.; BRASHLER, J.R.: Ionophore A 23187-induced production of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) by rat peritoneal cells in vitro: Evidence for production by mononuclear cells. J. Immunol. 120: 998-1005 (1978)

11. BEAZLEY, J.M.: Prostaglandins in human reproduction. Brit.J.Hosp.Med. (Nachdruck) (1971)
12. BEHRENDT, H.; ROSENKRANZ, U.; SCHMUTZLER, W.: Ultrastructure of isolated human mast cells during histamine release induced by ionophore A 23187. Int.Archs Allergy appl.Immun. 56:188-192 (1978)
13. BERENBLUM, I.: The cocarcinogenic action of croton resin. Cancer Res. 1:44 (1941)
14. BLACK, J.W.; DUNCAN, W.A.M.; DURANT, C.J.; GENELLIN, C.R.; PARSONS, E.M.: Definition and antagonism of histamine H₂-receptors. Nature 236:385 (1971)
15. BLUM, R.; GELLER, G.; FISH LA: Recurrent severe staphylococcal infections, eczematoid rash, extreme elevation of IgE, eosinophilia and divergent chemotactic responses in two generations. J.Pediatr. 90:607 (1977)
16. BOKISCH, V.A.; MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Anaphylatoxin inactivator of human plasma: Its isolation and characterisation as a carboxypeptidase. J.Clin. Invest. 49:2427 (1970)
17. Boot, J.R.; BROCKWELL, A.D.J.; DAWSON, W.; SWEATMAN, W.: The relationship between prostaglandin-like substances and SRS-A released from immunologically challenged lungs. Br.J.Pharmac. 59:444 (1977)
18. BOOT, J.R.; DAWSON, W.; COCKERILL, A.F.; MALLIN, D.N.B.; OSBORNE, D.J.: The pharmacologie of prostaglandin-like substances released from guinea-pig lungs during anaphylaxis. Prostaglandins 13:927-932 (1977)
19. BORELLI, S.; SCHNYDER, U.W.: Neurodermitis constitutionalis sive atopica. II.Teil: Ätiologie, Pathophysiologie, Pathogenese, Therapie. In: Miescher, G. Storck, H. (Hrsg.) Entzündliche Dermatosen I. Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten. Suppl.II/1:254, Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg (1962)
20. BORGEAT, P.; SAMUELSSON, B.: Arachidonic acid metabolism in polymorphonuclear leukocytes, effects of ionophore A 23187. Proc.Natl.Acad.Sci. USA 76:2148-2152 (1979)
21. BORK, K.; KÖNIG, W.: Neue In-vitro-Methodik in der Allergologie: Histamin-Release-Test. Dtsch.Med. Wschr. 106:1060-1064 (1981)

22. BOURNE, H.R.; LICHTENSTEIN, L.M.; MELMON, K.L.; HENNEY, C.S.; WEINSTEIN, Y.; SHEARER, G.M.: Modulation of inflammation and immunity by cyclic AMP. Receptors for vasoactive hormones and mediators of inflammation regulate many leukocyte functions. *Science* 184:19-28 (1974)
23. BUDZKO, D.B.; BOKISCH, V.A.; MÜLLER-EBERHARD, H.J.: A fragment of the third component of human complement with anaphylatoxin activity. *Biochemistry* 10:1166 (1971)
24. BUNGE, R.: Azetylsalizylsäure (ASS) und Prostaglandine. *Med. Welt* Bd.28, Heft 45:1834-1839 (1977)
25. BUSSE, W.W.; LEE, T.P.: Decreased adrenergic responses in lymphocytes and granulocytes in atopic eczema. *J.Allergy Clin.Immunol.* 58:586-596 (1976)
26. BUSSE, W.W.; SOSMAN, J.: Histamin inhibition of neutrophil lysosomal enzyme release: An H_2 -histamine receptor response. *Science* 194:737 (1976)
27. CEUPPENS, J.L.; GOODWIN, J.S.: Endogenous prostaglandin E_2 enhances polyclonal immunoglobulin production by tonically inhibiting T suppressor cell activity. *Cell.Immunol.* 70:41-54 (1982)
28. COLLIER, H.O.J.; SWEATMAN, W.: Antagonism by fenamates of prostaglandin E_2 and of slow reacting substance on human bronchial muscle. *Nature* 219:864-865 (1968)
29. CONROY, M.C.; ORANGE, R.P.; LICHTENSTEIN, L.M.: Release of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) from human leukocytes by the calcium ionophore A 23187. *J.Immunol.* 116:1677 (1976)
30. CONROY, M.C.; ADKINSON, N.F.; LICHTENSTEIN, L.M.: Measurement of IgE on human basophils: Relation to serum IgE and anti-IgE-induced histamine release. *J.Immunol.* 118:1317-1324 (1977)
31. CONROY, M.C.: Releasability - a new dimension in basophil and mast cell reactivity. In: Ring, J.; Burg, G.: *New Trends in Allergie* pp 40-45, Springer Berlin (1981)
32. CONROY, M.C.; WECK, A.L.DE: Effect of aspirin and indomethacin on histamine release from leukocytes of patients with suspected intolerance to aspirin. *Int.Archs Allergy appl.Immun.* 66:152-153 (1981)
33. CRUNKHORN, P.; WILLIS, A.L.: Cutaneous reactions to intradermal prostaglandins. *Br.J.Pharmacol.* 41:49 (1971)

34. DALE, H.H.; LAIDLAW, P.P.: The physiological action of beta-iminazoethylaniline. *J. Physiol.* 41:318 (1910)
35. DE CHATELET, L.R.; SHIRLEY, P.S.; JOHNSTON, R.B.: Effect of phorbol myristate acetate on the oxidative metabolism of human polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 47:545-554 (1976)
36. DIAMANT, B.; NORM, S.; FELDING, P.; OLSEN, N.; ZIEBEL, A.; NISSEN, J.: ATP level and CO₂ production of mast cells in anaphylaxis. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 47:894 (1974)
37. DIAMANT, B.; GROSMAN, N.; STAHL SKOV, P.; THOMLE, S.: Effect of divalent cations and metabolic energy on the anaphylactic histamine release from rat peritoneal mast cells. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 47:412 (1974)
38. DIAMANT, B.; PATKAR, S.A.: Stimulation and inhibition of histamine release from isolated rat mast cells. Dual effects of the ionophore A 23187. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 49:183 (1975)
39. DOENICKE, A.: H₁- und H₂-Rezeptoren-wirksame Agonisten und Antagonisten (Pharmakotherapie der Allergie). *Anaesthesiologie und Intensivmedizin*, Bd. 130:42-57 Springer, Berlin, Heidelberg, New York (1980)
40. DORSCH, W.; RING, J.; RIEPL, H.: Effect of 15-hydroxy-eicosatetraenoic acid (15-HETE) on anti-immunoglobulin E- and calcium ionophore-induced histamine release from human leukocytes. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 73:274-279 (1984)
41. DRIEDGER, P.E.; BLUMBERG, P.M.: Specific binding of phorbol ester tumor promoters. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:567-571 (1980)
42. DUNPHY, W.C.; DELELOS, K.B.; BLUMBERG, P.M.: Characterization of specific binding of (³H)phorbol 12,13-dibutyrate and (³H)phorbol 12-myristate 13-acetate to mouse brain. *Cancer Res.* 40:3635-3641 (1980)
43. DVORAK, A.M.; DVORAK, H.F.: The basophil. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 103:551-557 (1979)
44. EHRLICH, P.: Über die spezifische Granulation des Blutes. *Arch. Anat. Physiol. Phys.* 3:571-579 (1877)
45. EHRLICH, P.: Diskussionsbemerkung zum Vortrage Engels. *Dtsch. Med. Wschr.* 37:274 (1898)

46. EMERIT, I.; CERUTTI, P.A.: Tumor promoter phorbol 12-myristate 13-acetate induces a clastogenic factor in human lymphocytes. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 79: 7509-7513 (1982)
47. ENGINEER, D.M.; PIPER, P.J.; SIROIS, P.: Interaction between the release of SR5-A and of prostaglandins. *Br.J.Pharmac.* 57:460-461 (1976)
48. ENGINEER, D.M.; NIEDERHAUSER, U.; PIPER, P.J.; SIROIS, S.: Release of mediators of anaphylaxis: Inhibition of prostaglandin synthesis and the modification of slow reacting substance of anaphylaxis and histamine. *Br.J.Pharmacol.* 62:61-66 (1978)
49. ESTENSEN, R.D.; HILL, P.G.; QUIE, P.G.; HOGAN, N.; GOLDBERG, N.D.: Cyclic GMP and cell movement. *Nature* 245:458-461 (1973)
50. FANTOZZI, R.; MASINI, E.; BLANDINA, B.; MANNAIONI, P.F.; BANI-SACCHI, T.: Release of histamine from rat mast cells by acetylcholine. *Nature* 273:473-476 (1978)
51. FARNAM, J.; GRANT, J.A.; LETT-BROWN, M.A.; HUNT, C.; THUESON, D.O.; GICLAS, P.C.: Complement and IgE-mediated release of histamine from basophils in vitro. Differential effects of drugs modulating arachidonic acid metabolism. *J.Immunol.* 134:1-7 (1985)
52. FEINMANN, R.D.; DETWILER, T.C.: Platelet secretion induced by divalent cation ionophores. *Nature* 249: 172-176 (1974)
53. FEWTRELL, C.; METZGER, H.: Larger oligomers of IgE are more effective than dimers in stimulation rat basophilic leukemia cells. *J.Immunol.* 125:701-710 (1980)
54. FINDLAY, S.R.; LICHTENSTEIN, L.M.; GRANT, J.A.: Generation of slow reacting substance by human leukocytes. II Comparison of stimulation by antigen, anti-IgE, calcium ionophore and C5-peptides. *J.Immunol.* 124:238-244 (1980)
55. FLOWER, R.J.: Drugs which inhibit prostaglandin biosynthesis. *Pharmacol. Rev.* 26:33-35 (1974)
56. FOREMAN, J.C.; MONGAR, J.L.; GOMPERTS, B.D.: Calcium ionophores and the movement of calcium ions following the physiological stimulus to a secretory process. *Nature* 245:249-251 (1973)
57. FOREMAN, J.C.; GARLAND, L.G.: Desensitization in the process of histamine secretion induced by antigen and dextran. *J.Physiol.* 239:381-389 (1974)

58. FOREMAN, J.C.; GARLAND, L.G.; MONGAR, J.L.: The role of calcium in secretory process; model studies in mast cells; in calcium in biological systems. 30th Symp. Soc. for Experimental Biology p.193 (Cambridge University Press, Cambridge 1976)
59. FRICKHOFEN, N.; KÖNIG, W.: Der neutrophile Granulozyt. Dtsch. Med. Wschr. 104:1529-1534 (1979)
60. FÜRSTENBERGER, G.; MARKS, F.: Early prostaglandin E synthesis is an obligatory event in the induction of cell proliferation in mouse epidermis in vivo by the phorbol ester TPA. Biochem. Biophys. Res. Commun. 92:749-753 (1980)
61. GILLESPIE, E.; LICHTENSTEIN, L.M.: Histamine release from human leukocytes: Studies with deuterium oxide, colchicine and cytochalasin B. J. Clin. Invest. 51: 2941-2945 (1972)
62. GILLESPIE, E.: Microtubules, cyclic AMP, calcium and secretion. Ann. N.Y. Acad. Sci. 253:771-774 (1975)
63. GILLESPIE, E.; LICHTENSTEIN, L.M.: Histamine release from human leukocytes: Relationships between cyclic nucleotide, calcium and antigen-concentrations. J. Immunol. 115:1572-1577 (1975)
64. GOERTTLER, E.; SCHNYDER, U.W.: Zur Erbprognose der Neurodermitis atopica (Prurigo Besnier, atopic dermatitis, endogenes Ekzem). Hautarzt 26:18 (1975)
65. GOLDSTEIN, I.M.; BRAI, M.; OSLER, A.G.; WEISSMANN, G.: Lysosomal enzyme release from human leukocytes: Mediation by the alternate pathway of complement activation. J. Immunol. 111:33-37 (1973)
66. GOLDSTEIN, I.M.; HOFFSTEIN, S.; GALLIN, J.; WEISSMANN, G.: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human leukocytes: Microtubule assembly and membrane fusion induced by component of complement. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 70:2916-2920 (1973)
67. GOLDSTEIN, I.M.; HOFFSTEIN, S.; WEISSMANN, G.: Influence of divalent cations upon complement-mediated enzyme release from human polymorphonuclear leukocytes. J. Immunol. 115:665-670 (1975)
68. GOLDSTEIN, I.M.; HOFFSTEIN, S.; WEISSMANN, G.: Mechanisms of lysosomal enzyme release from human polymorphonuclear leukocytes. J. Cell. Biol. 66:647 (1975)

69. GOODWIN, J.S.; BANKHURST, A.D.; MESSNER, R.P.:
Suppression of human T cell mitogenesis by prostaglandin existence of a prostaglandin-producing suppressor cell. *J.Exp.Med.* 146:1719 (1977)
70. GOODWIN, J.; WEINBERG, J.B.: Receptor mediated modulation of human monocyte, neutrophil, lymphocyte and platelet function by phorbol diesters. *J.Clin.Invest.* 70:699-706 (1982)
71. GOTH, A.; JOHNSON, A.R.: Current concepts of the secretory function of mast cells. *Sciences* 16:1201-1214 (1973)
72. GRANT, J.A.; LICHTENSTEIN, L.M.: Release of slow reacting substance of anaphylaxis from human leukocytes. *J.Immunol.* 112:897 (1974)
73. GRANT, J.A.; DUPREE, E.; GOLDMAN, A.S.; SCHULTZ, D.R.; JACKSON, A.L.: Complement mediated release of histamine from human leukocytes. *J.Immunol.* 114:1101-1105 (1975)
74. GRANT, J.A.; SETTLE, L.; WHORTON, E.B.; DUPREE, E.: Complement mediated release of histamine from human basophils. II Biochemical characterization of the reaction. *J.Immunol.* 117:450-454 (1976)
75. GREAVES, M.W.; MCDONALD-GIBSON, W.: Effect of nonsteroid anti-inflammatory and anti-pyretic drugs on prostaglandin biosynthesis by human skin. *J.Invest.Dermatol.* 61:127-129 (1973)
76. GREVEN, J.: Prostaglandine. *Med.Klin.* 74:591-603 (1979)
77. GREVERS-COLORIAN, J.; PRZYBILLA, B.; RING, J.: Inhibition of anti-IgE induced histamine release by 5-alpha-dihydrotestosterone (DHT). *Archs.Derm.Res.* in press
78. GUISBURG, H.; BEN-SHAHAR, D.; HAMMEL, I.; BEN-DAVID, E.: Degranulation capacity of cultured mast cells in the presence of histamine releaser. *Nature* 280:151-153 (1979)
79. HÄGERMARK, Ö.; STRANDBERG, K.: Pruritogenic activity of prostaglandin E₂. *Acta Dermatovener (Stockholm)* 57:37-43 (1977)
80. HAMMARSTROM, S.: Selective inhibition of platelet n-8 lipooxygenase by 5,8,11, eicosatriynoic acid. *Biochem.Biophys.Acta* 487:517 (1977)
81. HASTIE, R.; LEVY, D.A.; WEISS, L.: The antigen-induced degranulation of basophil leukocytes from atopic subjects studied by electron microscopy. *Laboratory Investigation* 36:173-182 (1977)

82. HEDQUIST, P.: Interaction between prostaglandins and calcium ions on noradrenalin release from the stimulated guinea-pig vas deferens. *Acta Physiol. Scand.* 90:153-157 (1974)
83. HEMPSTEAD, B.L.; PARKER, C.W.; KULCZYCKI, A.: Characterization of the IgE receptor isolated from human basophils. *J. Immunol.* 123:2283-2291 (1979)
84. HENDERSON, W.R.; SMITH, L.; KALINER, M.: Alpha adrenergic responses in asthma. *Clin. Res.* 26:447-451 (1978)
85. HENSON, P.M.: Mechanisms of activation and secretion by platelets and neutrophils. *Progr. Immunol.* 11:95 (1974)
86. HENSON, P.M.: Membrane receptors on neutrophils. *Immunol. Communications* 5:757-762 (1976)
87. HOLGATE, S.C.; LEWIS, R.A.; AUSTEN, K.F.: Mast cell activation and secretion. In: Ring, J.; Burg, G.; New Trends in Allergy. Springer, Berlin (1981)
88. HOOK, W.A.; SIRAGANIAN, R.P.; WAHL, S.M.: Complement induced histamine release from human basophils. I Generation of activity in human serum. *J. Immunol.* 114:1185-1190 (1975)
89. HOOK, W.A.; SIRAGANIAN, R.P.: Complement induced histamine release from human basophils. III Effect of pharmacologic agents. *J. Immunol.* 118:679-684 (1977)
90. HOROWITZ, A.D.; GREENBAUM, E.; WEINSTEIN, I.B.: Identification of receptors for phorbol ester tumor promoters in intact mammalian cells and of an inhibitor of receptor binding in biologic fluids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2315-2319 (1981)
91. HORTON, E.W.: Hypothesis on physiological roles of prostaglandins. *Physiol. Rev.* 49:122 (1969)
92. HUGLI, T.E.; VALLOTA, E.H.; MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Purification and partial characterization of human and porcine C3a anaphylatoxin. *J. Biol. Chem.* 250:1472 (1974)
93. HUGLI, T.E.; MÜLLER-EBERHARD, H.J.: Anaphylatoxins: C3a und C5a. *Adv. Immun.* 26:1-53 (1978)
94. ISHIZAKA, K.; ISHIZAKA, T.: Identification of IgE antibodies as a carrier of reaginic activity. *J. Immunol.* 99:1187-1198 (1967)

95. ISHIZAKA,T.; ISHIZAKA,K.; JOHANSSON,G.O.; BENNICH,H.: Histamine release from human leukocytes by anti-IgE antibodies. J.Immunol. 102:884-891 (1969)
96. ISHIZAKA,T.; ISHIZAKA,K.: IgE molecules and their receptor sites on basophils. In: Goodfriend,L.; Sehon,A.H.; Orange,R.P. (Hrsg.) Mechanisms of allergy pp 221-234 (1973)
97. ISHIZAKA,T.; SOTO,C.S.; ISHIZAKA,K.: Mechanisms of passive sensitization. III Number of IgE molecules and their receptor sites on human basophil granulocytes. J.Immunol. 3:500-512 (1973)
98. ISHIZAKA,T.; ISHIZAKA,K.: Cell surface IgE on human basophil granulocytes. Ann.N.Y.Acad.Sci. 13:462-473 (1974)
99. ISHIZAKA,T.; ISHIZAKA,K.; CONRAD,D.H.; FROESE,A.: A new concept of triggering mechanisms of IgE-mediated histamine release. J.Allergy Clin.Immunol. 61:320-330 (1978)
100. ISHIZAKA,T.; HIRATA,F.; ISHIZAKA,K.; AXELROD,J.: Stimulation of phospholipid methylation, calcium influx and histamine release by bridging of IgE receptors on rat mast cells. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 77:1901-1908 (1980)
101. JAKSCHIK,B.A.; FALKENHEIM,S.; PARKER,C.W.: Precursor role of arachidonic acid in release of slow reacting substance from rat basophilic leukemia cells. Proc.Natl.Acad.Sci. 74:4577-4581 (1977)
102. JEUNE,R.; FAURE,M.; LEUNG TACK,J.; SCHMITT,D.; THIOVOLET,J.: Defective leukotaxia and recurrent staphylococcal infection. Arch.Dermatol. 114:1372-1375 (1978)
103. JOHANSEN,T.; CHAKRAVARTY,N.: The utilization of adenosine triphosphate in rat mast cells during histamine release. Arch.Pharmacol. 288:243 (1975)
104. JOHNSON,H.H.; DEOREO,G.A.; LASCHIED,W.P.; MITCHELL,F.: Skin histamine levels in chronic atopic dermatitis. J.Invest.Dermatol. 34:237-243 (1960)
105. KATZ,G.: Histamine release from blood cells in anaphylaxis in vitro. Science 91:221 (1940)
106. KAZIMIERCZAK,W.; DIAMANT,B.: Mechanisms of histamine release in anaphylactic and anaphylactoid reactions. Prog.Allergy 24:295-365 (1978)

107. KERN,F.; LICHTENSTEIN,L.M.: Defective histamine release in chronic urticaria. J.Clin.Invest. 57: 1369-1375 (1976)
108. KJELLMAN,N.I.: Immunglobulin E and atopic allergy in childhood. Medical dissertation n° 36, University of Linköping (1976)
109. KO,L.; LAGUNOFF,D.: Depletion of mast cell ATP inhibits complement-dependant cytotoxic histamine release. Expl.Cell.Res. 100:313 (1976)
110. KÖNIG,H.: Zur Chemie der Prostaglandine: Biogenese, Stoffwechsel, Totalsynthese. Klin. Wochenschrift 53: 453-460 (1975)
111. KÖNIG,W.: Die immunbiologische Rolle des Histamins und seine Bedeutung für die Allergiediagnostik. Immunität und Infektion 1:38-46 (1978)
112. KORDIAN,H.J.: Chemie und Pharmakologie der Prostaglandine. Therapiewoche 27:2461-2470 (1977)
113. KUEHL,F.A.; EGAN,R.W.: Prostaglandins, arachidonic acids and inflammation. Science 210:978-984 (1980)
114. LAGUNOFF,D.; EMIL,J.C.: Mast cell secretion: membrane events. J.Invest.Dermatol. 71:81-84 (1978)
115. LEHRER,R.I.; COHEN,L.: Receptor-mediated regulation of superoxide production in human neutrophils stimulated by phorbol myristate acetate. J.Clin.Invest. 68:1314-1320 (1981)
116. LEVINE,L.; AVIV,H.: Effects of phorbol-12,13-diesters on prostaglandin production and phospholipase activity in canine kidney cells (MDCK). Biochem.Biophys.Res.Comm. 79:477-482 (1977)
117. LEWIS,R.A.; GOETZL,E.J.; WASSERMANN,S.J.; VALONE,F.H.; RUBIN,R.H.; AUSTEN,K.F.: The release of four mediators of immediate hypersensitivity from human leukemic basophils. J.Immunol. 114:87 (1975)
118. LEWIS,G.P.; WHITTLE,B.J.R.: The inhibition of histamine release from rat peritoneal mast cells by nonsteroid anti-inflammatory drugs and its reversal by calcium. Br.J.Pharmacol. 61:229-235 (1977)
119. LICHTENSTEIN,L.M.: The immediate allergic response: In vitro separation of antigen activation, decay and histamine release. J.Immunol. 107:1122-1130 (1971)

120. LICHTENSTEIN, L.M.; GILLESPIE, E.: Inhibition of histamine release by histamine controlled by H_2 -receptors. *Nature* 244:287 (1973)
121. LICHTENSTEIN, L.M.: The mechanism of basophil histamine release induced by antigen and by calcium ionophore A 23187. *J. Immunol.* 114:1692-1698 (1975)
122. LIPPERT, T.H.: Klinische Bedeutung der Prostaglandine. In: *MMW* 27:645-647 (1983)
123. LOWE, N.J.; VIRGADAMO, F.; STOUGHTON, R.B.: Anti-inflammatory properties of a prostaglandin antagonist, a corticosteroid and indomethacin in experimental dermatitis. *Br. J. Dermatol.* 96:433-438 (1977)
124. MAGRO, A.M.; ALEXANDER, A.: Histamine release: In vitro studies of the inhibitory region of the dose-response curve. *J. Immunol.* 112:176-180 (1974)
125. MAGRO, A.M.: Effects of inhibitors of arachidonic acid metabolism upon IgE- and non-IgE-mediated histamine release. *Int. J. Immunopharmacol.* 4:15-20 (1982)
126. MARONE, G.; KAGEY-SOBOTKA, A.K.; LICHTENSTEIN, L.M.: Effects of arachidonic acid and its metabolites on antigen-induced histamine release from human basophils in vitro. *J. Immunol.* 123:1669-1677 (1979)
127. MARONE, G.; KAGEY-SOBOTKA, A.K.; LICHTENSTEIN, L.M.: IgE-mediated histamine release from human basophils: Differences between antigen E and anti-IgE induced secretion. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 65:339-348 (1981)
128. MARQUARDT, D.L.; NICOLOTTI, R.A.; KENNERLY, D.A.; SULLIVAN, T.J.: Lipid metabolism during mediator release from mast cells: Studies of the role of arachidonic acid metabolism in the control of phospholipid metabolism. *J. Immunol.* 127:845-849 (1981)
129. MARSH, D.G.; HSU, S.H.; HUSSAIN, R.; MEYERS, D.A.; FREIDHOFF, L.R.; BIAS, W.B.: Genetics of human immune response to allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 65:322-328 (1980)
130. MARX, J.L.: The leukotrienes in allergy and inflammation. *Science* 215:1380-1383 (1982)
131. MASTRO, A.M.: Phorbol ester tumor promoters and lymphocyte proliferation. *Cell Biol. Int. Rep.* 7:881-889 (1983)

132. MATHE, A.A.; HEDQUIST, P.; HOLMGREN, A.; SVANBORG, N.:
Bronchial hyperactivity to prostaglandin F₂alpha
and histamine in patients with asthma. Br.Med.J. 193:865-869 (1973)
133. MATHE, A.A.: Studies on actions of prostaglandins in
the lung. Acta Physiol.Scand.Suppl. 441:1-55 (1976)
134. MATHE, A.A.; YEN, S.S.; SOHN, R.J.: Release of prosta-
glandins and histamine from sensitized and anaphy-
lactic guinea-pig lungs: Changes in cyclic AMP levels.
Biochem.Pharmac. 26:256 (1977)
135. MORITA, Y.; CHIANG, P.K.; SIRAGANIAN, R.P.: Inhibitors
of transmethylation on histamine release from baso-
phils. J.Pharmacol. 30:785 (1981)
136. MUFSON, R.A.; DEFEO, D.; WEINSTEIN, I.B.: Effects of
phorbol ester tumor promoters on arachidonic acid
metabolism in chick embryo fibroblasts.
Mol.Pharmacol. 16:569-572 (1979)
137. MURPHY, R.C.; HAMMARSTROM, S.; SAMUELSSON, B.:
Leukotriene C: A slow reacting substance from murine
mastocytoma cells. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:4275
(1979)
138. NAGLE, D.S.; BLUMBERG, P.M.: Activity of phorbol ester
tumor promoters on enucleated Swiss 3T3 cells.
Cancer Res. 40:1066-1072 (1980)
139. NAKAGAWARA, A.; NATHAN, C.F.; COHN, Z.A.: Hydrogen
peroxide metabolism in human monocytes during dif-
ferentiation in vitro. J.Clin.Invest. 68:1243-1252
(1981)
140. NORMAN, P.S.; LICHTENSTEIN, L.M.; ISHIZAKA, T.:
Diagnostic tests in ragweed hay fever. A comparison
of direct skin test, IgE antibody measurements and
basophil histamine release. J.Allergy 52:210-216
(1973)
141. OKAZAKI, T.; JOHNSON, T.F.; REISMAN, R.E.; ARBESMAN, C.E.;
MIDDLETON, E.: Plasma prostaglandin concentrations
in allergic bronchial asthma. Int.Archs Allergy
appl.Immun. 57:279-281 (1978)
142. OKAZAKI, T.; ILEA, V.S.; ROSARIO, N.A.; REISMAN, R.E.;
ARBESMAN, C.E.; LEE, J.B.; MIDDLETON, E., JR.:
Regulatory role of prostaglandin E in allergic
histamine release with observations on the respon-
siveness of basophil leukocytes and the effect of
acetylsalicylic acid. J.Allergy Clin.Immunol. 60:
360-366 (1977)

143. PARKER, C.W.; SMITH, J.W.: Alterations in cyclic adenosine monophosphate metabolism in human bronchial asthma. I Leukocyte responsiveness to beta-adrenergic agents. *J.Clin.Invest.* 52:48-59 (1973)
144. PARKER, C.W.; KENNEDY, S.; EISEN, A.Z.: Leukocyte and lymphocyte cyclic AMP response in atopic eczema. *J.Invest.Dermatol.* 68:302-305 (1977)
145. PASSWELL, S.; DRAYER, J.M.; MGRLEF, E.: Increased prostaglandin production by human monocytes after membrane receptor activation. *J.Immunol.* 123:115-120 (1979)
146. PETERS, S.P.; SCHLEIMER, R.P.; KAGEY-SOBOTKA, A.K.; MACLERIO, R.M.; MCGLASHAN, D.W., JR.; SCHULMAN, E.S.; ADKINSON, E.F.; LICHTENSTEIN, L.M.: The role of prostaglandin E_2 in IgE-mediated reactions in man. *Trans.Ass.Am.Phys.* 95:221 (1981)
147. PETERS, S.P.; KAGEY-SOBOTKA, A.K.; MCGLASHAN, D.W.; SIEGEL, M.I.; LICHTENSTEIN, L.M.: The modulation of human basophil histamine release by products of the 5-lipoxygenase pathway. *J.Immunol.* 129:797-803 (1982)
148. PETERSON, C.; DIAMANT, B.: Increased utilization of endogenous ATP in isolated rat mast cells during histamine release induced by compound 48/80. *Acta Pharmac.Tox.* 34:337 (1974)
149. PETERSSON, B.A.; NILSSON, A.; STALENHEIM, G.: Induction of histamine release and desensitization in human leukocytes: Effect of anaphylatoxin. *J.Immunol.* 114: 1581-1584 (1975)
150. PRAUSNITZ, C.; KÜSTNER, H.: Studien über die Überempfindlichkeit. *Zentralbl.Bakteriol.* 86:106-169 (1921)
151. PRESSMAN, B.C.; HARRIS, E.J.; JAGGER, W.S.; JOHNSON, J.H.: Antibiotic-mediated transport of alkali ions across lipid barriers. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 58:1949 (1967)
152. RAJKA, G.: Atopic dermatitis: Major problems in dermatology. Saunders, London pp 1-169 (1975)
153. REED, P.W.; LARDY, H.A.: A 23187: A divalent cation ionophore. *J.Biol.Chem.* 247:6970-6976 (1972)
154. RING, J.: Zyklisches Adenosin-3-5-Monophosphat (c-AMP) und Allergie. *Hautarzt* 29:625-631 (1978)
155. RING, J.; ARROYAVE, C.M.; FRITZLER, M.J.; TAN, E.M.: In vitro histamine and serotonin release by radiographic contrast media (RCM). Complement dependant and independent release reaction and changes in ultrastructure of human blood cells. *Clin.Exp.Immunol.* 32:105-109 (1978)

156. RING,J.; ENDRICH,B.; INTAGLIETTA,M.: Histamine release, complement consumption and microvascular changes after radiographic contrast media infusion in rabbits. J.Lab.Clin.Med. 92:584-594 (1978)
157. RING,J.; SIMON,R.A.; ARROYAVE,C.M.: Increased in vitro histamine release by radiographic contrast media in patients with history of incompatibility. Clin.Exp. Immunol. 34:302-309 (1978)
158. RING,J.: Atopic dermatitis: A disease of general vasoactive mediator dysregulation. Int.Archs Allergy appl.Immun. 59:233-238 (1979)
159. RING,J.; O'CONNOR,R.: In vitro histamine and serotonin release studies in atopic dermatitis. Int.Archs Allergy appl.Immun. 58:322-326 (1979)
160. RING,J.; ALLEN,D.H.; MATHISON,D.A.; SPIEGELBERG,H.L.: In vitro releasability of histamine and serotonin: Studies of atopic patients. J.Clin.Lab.Immunol. 3: 85-91 (1980)
161. RING,J.: Atopische Dermatitis: Versuch einer Synopse immunologischer Phänomene. Rast 2:28-38 (1981)
162. RING,J.: Increased vasoactive mediator releasability: A possible pathogenetic factor of atopic dermatitis. Int.Archs Allergy appl.Immun. 66:156-160 (1981)
163. RING,J.; MATHISON,D.A.; O'CONNOR,R.: In vitro cyclic nucleotide responsiveness of peripheral leukocytes and platelets in patients suffering from atopic dermatitis. Int.Archs Allergy appl.Immun. 65:1-7 (1981)
164. RING,J.: Arzneimittelbedingte Unverträglichkeitsreaktionen. Deutsches Ärzteblatt - Ärztliche Mitteilungen 49:37-41 (1982)
165. RING,J.: Angewandte Allergologie. MMV Medizin Verlag, München (1982)
166. RING,J.: Reaktionsbereitschaft ("Releasability"): Veränderte Reaktionsmuster in der Freisetzung vasoaktiver Mediatoren. Allergologie 2:41-48 (1984)
167. RING,J.: Mediatoren bei allergischen Hautkrankheiten. Allergologie 2:69-78 (1985)
168. RUTHERFORD,B.; SCHENKEIN,H.A.: C3 cleavage products stimulate release of prostaglandins by human mononuclear phagocytes in vitro. J.Immunol. 130:874-877 (1983)

169. RUZICKA, I.; PRINTZ, M.P.: Arachidonic acid metabolism in skin: A review. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 100:122-149 (1984)
170. RUZICKA, I.; SIMMET, I.; PESKAR, B.A.; BRAUN-FALCO, O.: Leukotrienes in skin of atopic dermatitis. *Lancet I*: 222-223 (1984)
171. SALARI, H.; BRAQUET, P.; BORGEAT, P.: Comparative effects of indomethacin, acetylenic acids, 15-HETE, nordi-hydrogenaiaretic acid and BW 755C on the metabolism of arachidonic acid in human leukocytes and platelets. In: *Prostaglandins, Leukotrienes and Medecine* 13:53-60 (1984)
172. SAMUELSSON, B.: Biosynthesis of prostaglandins. *Fed. Proc.* 31:1442-1449 (1972)
173. SAMUELSSON, B.; GRANSTRÖM, E.; GREEN, K.; HAMMARSTROM, S.: Prostaglandins. *Ann. Rev. Biochem.* 44:669-695 (1975)
174. SAMUELSSON, B.: The leukotrienes: An introduction. In: *Leukotrienes and Lipxygenase Products*; (Hrsg.: Samuelsson, B.; Paoletti, R.) Raven Press N.Y. (1982)
175. SAMUELSSON, B.: Leukotrienes: Mediators of immediate hypersensitivity reactions and inflammation. *Science* 220:568-572 (1983)
176. SANDUZKY, C.B.; JOHNSON, A.R.; MORAN, N.C.: Effect of endotoxin and anaphylatoxin on rat mast cells and chopped rat lung. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 143:764 (1973)
177. SCHLEIMER, R.P.; BENJAMINI, E.: Effects of prostaglandin synthesis inhibition on the immune response. *Immunopharmacology* 3:205-219 (1981)
178. SCHLEIMER, R.P.; GILLESPIE, E.; LICHTENSTEIN, L.M.: Release of histamine from human leukocytes stimulated with the tumor promoting phorbol diesters. I Characterization of the response. *J. Immunol.* 126:570-574 (1981)
179. SCHLEIMER, R.P.; GILLESPIE, E.; DAIUTA, R.; LICHTENSTEIN, L.M.: Release of histamine from human leukocytes stimulated with the tumor promoting phorbol diesters. II Interaction with other stimuli. *J. Immunol.* 128: 136-140 (1982)
180. SCHÜLKENS, B.A.: Prostaglandine. In: *Diagnostik* 15: 1060-1070 (1982)

181. SCHORLEMMER, H.U.; DAVIES, P.; ALLISON, A.C.: Ability of activated complement components to induce lysosomal enzyme release from macrophages. *Nature* 261:48-53 (1976)
182. SHORE, P.A.; BURKHATLER, A.; COHN, V.H.: A method for the fluorometric assay of histamine in tissues. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 127:182-191 (1959)
183. SHOYAB, M.; WARREN, T.C.; TODARO, G.J.: Isolation and characterization of an ester hydrolase active on phorbol diesters from murine liver. *J.Biol.Chem.* 256:12529-12534 (1981)
184. SHOYAB, M.; TODARO, G.J.: Partial purification and characterization of a binding protein for biologically active phorbol and ingenol esters from murine sera. *J.Biol.Chem.* 257:439-445 (1982)
185. SINZINGER, H.: Prostaglandine in der Inneren Medizin. *Münch.Med.Wschr.* 125:651-654 (1983)
186. SIRAGANIAN, P.A.; SIRAGANIAN, R.P.: Basophil activation by concanavalin A: Characteristics of the reaction. *J.Immunol.* 112:2117-2125 (1974)
187. SIRAGANIAN, R.P.: Refinements in the automated fluorometric histamine analysis system. *J.Immunol.* 7: 283-290 (1975)
188. SIRAGANIAN, R.P.: Histamine release and assay methods for the study of human allergy. In: *Manual of Clinical Immunology* pp 603-615 (1976)
189. SIRAGANIAN, R.P.; BRODSKY, M.J.: Automated histamine analysis for in vitro allergy testing. I A method utilizing allergen-induced histamine release from whole blood. *J.Allergy Clin.Immunol.* 57:525-540 (1976)
190. SIRAGANIAN, R.P.; HOOK, W.A.: Complement-induced histamine release from human basophils. II Mechanism of the histamine release reaction. *J.Immunol.* 116: 639-646 (1976)
191. SMYTHIES, J.R.: The possible molecular structure of binding sites for tumor promoting phorbol esters, 2-deacyl phospholipids and PGE on the molecule of phospholipase A₂. *J.Theor.Biol.* 81:401 (1979)
192. STEFANOVICH, V.: Inhibition of 3',5'-cyclic AMP phosphodiesterase with anti-inflammatory agents. *Res.Comm. Chem.Path.Pharmac.* 7:573-582 (1974)

193. STENSON, W.F.; PARKER, C.W.; SULLIVAN, T.J.: Augmentation of IgE-mediated release of histamine by 5-hydroxyeicosatetraenoic acid and 12-hydroxy-eicosatetraenoic acid. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 96:1045 (1980)
194. STRANDBERG, K.; MATHE, A.A.; YEN, S.S.: Release of histamine and formation of prostaglandins in human lung tissue and rat mast cells. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 53:520-529 (1977)
195. STRANNEGARD, I.L.; STRANNEGARD, Ö.: Increased sensitivity of lymphocytes from atopic individuals to histamine-induced suppression. *Scand. J. Immun.* 6:1225 (1977)
196. STÜTTGEN, G.: Mediatorenmechanismen in der menschlichen Haut: Pharmakoanalyse und therapeutische Aspekte. *Hautarzt* 28:277-285 (1977)
197. SULLIVAN, T.J.; PARKER, K.L.; EISEN, S.A.; PARKER, C.W.: Modulation of cyclic AMP in purified rat mast cells. II Studies on the relationship between intracellular cyclic AMP concentrations and histamine release. *J. Immunol.* 114:1480-1486 (1975)
198. SULLIVAN, T.J.; PARKER, C.W.: Possible role of arachidonic acid and its metabolites on mediator release from rat mast cells. *Fed. Proc.* 36:5015-5020 (1977)
199. SZCZELZLIK, A.; GRYGLEWSKI, R.J.: Asthma and anti-inflammatory drugs: Mechanisms and clinical patterns. In: *Drugs* 25:533-543 (1983)
200. SZENTIVANYI, A.: The beta-adrenergic theory of the atopic abnormality in asthma. *J. Allergy* 42:203-221 (1968)
201. TADA, T.; OKAMURA, K.; TANIJUCKI, M.: Regulation of homocytotropic antibody formation in the rat. *J. Immunol.* 108:1535-1539 (1972)
202. TADA, T.: Regulation of reaginic antibody formation in animals. *Progr. Allergy* 19:122-125 (1975)
203. TAUBER, A.I.; KALINER, M.; STECHSCHULTE, D.J.; AUSTEN, K.F.: Immunologic release of histamine and slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) from human lung. V Effects of prostaglandins on release of histamine. *J. Immunol.* 111:27-32 (1973)

204. TAYLOR, W.A.; FRANCIS, D.A.; SHELDON, D.; ROITT, I.M.: Anti-allergic actions of disodium cromoglycate and other drugs known to inhibit cyclic 3',5'- nucleotide phosphodiesterase. *Int. Archs Allergy appl. Immun.* 47:175-193 (1974)
205. THOMAS, R.U.; WHITTLE, B.J.R.: Prostaglandins and the release of histamine from rat peritoneal mast cells. *Br. J. Pharmac.* 57:474-475 (1976)
206. THUESON, D.O.; SPECK, L.S.; LETT-BROWN, M.A.; GRANT, J.A.: Histamine releasing activity (HRA). II Interaction with basophils and physicochemical characterization. *J. Immunol.* 123:633-639 (1979)
207. TILL, G.; WARD, P.A.: Two distinct chemotactic factor inactivators in human serum. *J. Immunol.* 114:843-847 (1975)
208. UVNÄS, B.: Mechanisms of histamine release in mast cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 103:278-285 (1963)
209. VALLOTA, E.H.; MÜLLER-EBERHARD, E.H.: Formation of C3a and C5a anaphylatoxins in whole human serum after inhibition of the anaphylatoxin inactivator. *J. Exp. Med.* 137:1109-1118 (1973)
210. VALLOTA, E.H.: Inhibition of C5a convertase by epsilon amino capronic acid (EACA): A limiting factor in the generation of a C5a anaphylatoxin. *J. Immunol.* 34: 439-441 (1978)
211. VANE, J.R.: Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin like drugs. *Nature* 231:232-235 (1971)
212. VANE, J.R.; BUNTING, S.; MONCADA, S.: Prostacyclin in physiology and pathophysiology. *Int. Rev. Exp. Pathol.* 23:161 (1982)
213. VENENCIE, P.B.; SAURAT, R.: In vitro releasability of basophils from children with atopic eczema. In: *New Trends in Allergy* (Ring, J.; Burg, G.; Hrsg.), Springer Berlin, Heidelberg, New York pp 223-224 (1981)
214. VICK, J.A.; MEHLMAN, B.; HEIFER, H.: Early histamine release and death due to endotoxin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 137:902 (1971)
215. VIRGI, M.A.G.; STEFFES, M.W.; ESTENSEN, R.D.: Phorbol myristate acetate: Effect of a tumor promoter on insulin release from isolated rat islets of Langerhans. In: *Endocrinology* 102:706-710 (1978)

216. VOGT,W.: Activation of the complement system. In: Agents and Actions 13:5-6 (1983)
217. VOIGTLÄNDER,V.: Bedeutung des Komplementsystems für die klinische Allergologie. In: Allergologie 6: 149-151 (1983)
218. VON DER HELM,D.; RING,J.; DORSCH,W.: Prostaglandin influence on basophil releasability from atopic and normal individuals. J. Allergy Clin.Immunol. 71:105 (1983)
219. WALKER,J.L.: The regulatory role of prostaglandins in the release of histamine and SRS-A from passively sensitized human lung tissue. In: Advances in Bio-sciences 9:235-240 (1973)
220. WANG,J.L.; MCCLAIN,D.A.; EDELMAN,G.M.: Modulation of lymphocyte mitogenesis. Proc.Natl.Acad.Sci. 72:1917 (1975)
221. WASSERMANN,S.I.: The mast cell: Its diversity of chemical mediators. Int.J.Dermatol. 19:7-17 (1980)
222. WEBB,D.R.; OSHEROFF,P.L.: Antigen stimulation of prostaglandin synthesis and control of immune respnses. Proc.Natl.Acad.Sci.USA 73:1300-1304 (1976)
223. WEBER,P.C.; SIESS,W.; SCHERER,B.: Vaskuläre, thrombozytäre und renale Prostaglandine. Klin.Wschr. 57: 425-444 (1979)
224. WEBSTER,R.O.; HONG,S.R.; JOHNSTON,R.B.,JR.; HENSON,P.M.: Biological effects of the human complement fragments C5a and desArg C5a on neutrophil function. Immunopharmacol. 2:201-219 (1980)
225. WHITE,J.G.; ESTENSEN,R.D.: Selective labilization of specific granules in polymorphonuclear leukocytes by PMA (phorbol myristate acetate). Am.J.Pathol. 75: 45-48 (1974)
226. WHITE,J.G.; RAO,G.H.R.; ESTENSEN,R.D.: Investigation of the release reactions in platelets exposed to phorbol myristate acetate. Am.J.Pathol. 75:301-314 (1974)
227. WILLIAMS,T.J.; PECK,M.J.: Role of prostaglandin-mediated vasodilatation in inflammation. Nature 270: 530-534 (1977)

228. ZUCKER, M.B.; TROLL, W.; BELMAN, S.: The tumor promoter phorbol ester: A potent aggregating agent for blood platelets. J.Cell.Biol. 60:325-336 (1974)
229. ZURIER, R.B.; SAYSDOFT, D.M.: Release of prostaglandins from human polymorphonuclear leukocytes. In: Inflammation 1:93 (1975)

H. DANKSAGUNG

Herrn Professor Dr.Dr.h.c. O.BRAUN-FALCO möchte ich für die Möglichkeit danken, an seiner Klinik die Doktorarbeit durchführen zu können.

Herrn Professor Dr.Dr. J.RING möchte ich ganz besonders danken für die Überlassung des Themas und seine immerwährende interessierte Anteilnahme am Fortschritt der Arbeit, die ganz erheblich zum Gelingen beigetragen hat. Mein herzlicher Dank gilt ebenso Frl.F.BEIER und Frau E. LUXEMBURGER im allergologischen Labor für die freundliche Unterstützung und die vielen technischen Ratschläge.

Herrn Dipl.Ing. M.ESCHENLOHR gilt mein aufrichtiger Dank für die graphische Gestaltung der Abbildungen und des Datenanhangs.

I. LEBENS LAUF

Am 10. Dezember 1956 wurde ich, Ulrike Karin Inge Walz, als älteste Tochter von Kurt Walz, Kaufmann, und Nora Walz, geb. Stricher, in Trossingen geboren.

Von 1962 bis 1967 besuchte ich die Turnseeschule in Freiburg/Brsg. und wechselte anschließend an das Goethe-Gymnasium (mathematisch-naturwissenschaftlich), wo ich 1976 das Abitur bestand. Von 1976 bis 1977 absolvierte ich eine einjährige Ausbildung zur medizinisch-kaufmännischen Assistentin und Arztsekretärin an der Buchholzscheule in Freiburg.

Das Medizinstudium begann ich 1977 an der Université Louis Pasteur in Straßburg (Frankreich), wo ich auch von 1979 bis 1980 zwei Semester Zahnmedizin studierte. Zum Sommersemester 1980 wechselte ich an die Freie Universität Berlin und legte dort 1981 das Physikum ab. Anschließend wechselte ich an die Ludwig Maximilian Universität München, legte dort im April 1982 den ersten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab und im April 1984 den zweiten Abschnitt. Zum Abschluß des Studiums wechselte ich an die Albert Ludwig Universität Freiburg und verbrachte das Praktische Jahr am Akademischen Lehrkrankenhaus Schwenningen, wo ich im April 1985 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ablegte.

Zum 1. August 1985 werde ich eine Assistenzarztstelle in der internistischen Abteilung des ALK Schwenningen antreten.

